

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-523695

(P2001-523695A)

(43) 公表日 平成13年11月27日 (2001. 11. 27)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード* (参考)
C 0 7 C 47/21		C 0 7 C 47/21	4 C 0 6 9
A 6 1 K 31/16		A 6 1 K 31/16	4 C 0 8 6
31/201		31/201	4 C 2 0 6
31/231		31/231	4 H 0 0 6
31/27		31/27	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 105 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-521789(P2000-521789)  
 (86) (22) 出願日 平成10年11月24日 (1998. 11. 24)  
 (85) 翻訳文提出日 平成12年5月23日 (2000. 5. 23)  
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 9 8 / 2 4 9 1 3  
 (87) 国際公開番号 W O 9 9 / 2 6 5 8 4  
 (87) 国際公開日 平成11年6月3日 (1999. 6. 3)  
 (31) 優先権主張番号 0 8 / 9 7 7 , 4 9 3  
 (32) 優先日 平成9年11月24日 (1997. 11. 24)  
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 ザ スクリップス リサーチ インスティ  
 テュート  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州  
 92037 ラ ジョラ ノース トーリー  
 バインス ロード 10550  
 (72) 発明者 ボガー デイル エル  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州  
 92037 ラ ジョラ ヴィア ボサダ  
 2819  
 (74) 代理人 弁理士 中村 稔 (外9名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ギャップ結合連絡の阻害剤

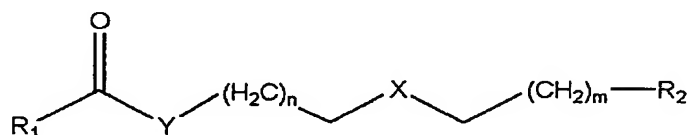
## (57) 【要約】

オレアミドは、動物における睡眠誘導特性を有する内在性脂肪酸一級アミドであり、セロトニン作動性系に作用し、構造特異的な態様でギャップ結合連絡をブロックすることが示されている。ある薬剤はオレアミドアゴニスト及び脂肪酸アミド加水分解酵素の阻害剤として役立つことができる。脂肪酸アミド加水分解酵素は、インビボにおけるオレアミドの急速な不活性化の原因である。グリア細胞におけるギャップ結合媒介性化学的及び電気的伝達の阻害に必要なオレアミドの構造的特徴が定義された。有効な阻害剤は一級アミドの2つのクラスに分類され、オレアミド及びアラキドンアミドはプロトタイプメンバーである。これらの中で、オレアミドは最も効果的であり、ギャップ結合の阻害のための構造的要件が十分に定義される。16~24 炭素原子の鎖長 (最適には16~18 炭素原子)、水素接合を許容することができるが水素結合を供与することは必要とされない分極した末端カルボニル基、 $\Delta^9$  シス二重結合及び疎水性メチル末端が要求される。これらの制約の中で、インビボにおける特性を増強させる広範囲の修飾が可能である。

BEST AVAILABLE COPY

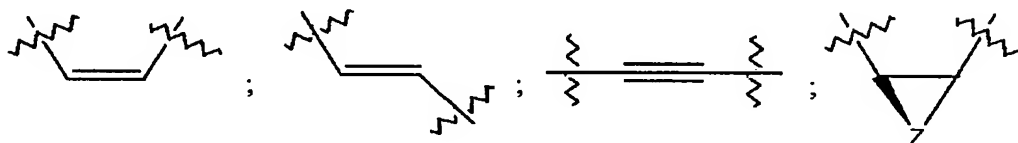
## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の構造により示される、グリア細胞におけるギャップ結合媒介性化学的及び電気的伝達を阻害するためのオレアミドアゴニスト活性を有する化合物。



(式中、

Xは下記の構造により示される基から選ばれる二価の基であり、



(式中、Zは $-CH_2$  及び Oからなる群より選ばれる基であり、

Yは、 $-CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-CH(SH)-$ 、 $-CHSAc-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-CHCl-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)CH_2-$ 、 $-CH_2NHC(=O)-$ 及び $-CH_2N(CH_3)C(=O)-$ からなる群より選ばれる基であり、

$R_1$  は、水素、 $-NH_2$ 、 $OH$ 、 $MeNH-$ 、 $Me_2N-$ 、 $EtNH-$ 、 $Et_2N-$ 、 $CH_2=CHCH_2NH-$ 、 $n$ -プロピル $-NH-$ 、 $i$ -プロピル $-NH-$ 、シクロプロピル $-NH-$ 、 $i$ -プロピル $-NMe-$ 、ブチル $-NH-$ 、ピロリジン $-$ 、フェニル $-NH-$ 、フェニル $(CH_2)_3NH-$ 、 $HONH-$ 、 $MeONMe-$ 、 $NH_2NH-$ 、 $CH_3O-$ 、 $CH_3CH_2O-$ 、 $CH_3(CH_2)_2O-$ 、 $Me_2CHCH_2O-$ 、 $H-$ 、 $CF_3-$ 、 $BrCH_2-$ 、 $ClCH_2-$ 、 $N_2CH-$ 、 $HOCH_2CH_2NH-$ 、 $(HOCH_2CH_2)_2N-$ 、 $HOCH_2CH_2CH_2NH-$  及び  $HOCH_2CH(OAc)CH_2O-$  からなる群より選ばれる基であり、

$R_2$  は、 $-CH_3$ 、 $-(CH_2)_2CH_3$ 、 $-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2)_6CH_3$ 、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-CONH_2$  及び  $-CO_2H$  からなる群より選ばれる基であり、

$n$ は0～15の整数であり、 $m$ は0～15の整数であり、但し、 $n+m$ の合計は11～15であり、

但し、

Y が  $\text{CH}_2$  であり、n が 4 であり、m が 7 であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $\text{R}_1$  は  $-\text{CF}_3$  及び水素からなる群より選ばれる基ではなく、

Y が  $\text{CH}_2$  であり、n が 5 であり、m が 7 であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $\text{R}_1$  は  $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}_2$ 、及び  $-\text{C}(=\text{O})\text{OEt}$  からなる群より選ばれる基ではなく、

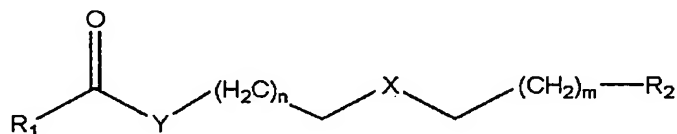
Y が  $\text{CHCl}$  であり、n が 4 であり、m が 7 であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $\text{R}_1$  は  $\text{NH}_2$  ではなく、

Y が  $\text{CH}(\text{OH})$  であり、n が 4 であり、m が 7 であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき  $\text{R}_1$  は  $\text{NH}_2$  ではなく、

Y が  $\text{C}(=\text{O})$  であり n が 4 であり、m が 7 であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $\text{R}_1$  は  $\text{NH}_2$  及び  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$  ではなく、

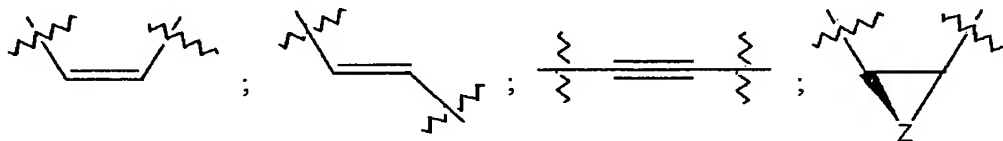
Y が  $\text{CH}_2$  であり、 $4 \leq n \leq 9$  であり、 $4 \leq m \leq 7$  であり、 $\text{R}_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $\text{R}_1$  は  $\text{NH}_2$  及び  $\text{OH}$  ではない。) )

【請求項 2】 グリア細胞を下記の構造により示されるオレアミドアゴニストと接触させることによる、グリア細胞におけるギャップ結合媒介性化学的及び電氣的伝達を阻害するため方法。



(式中、

X は下記の構造により示される基から選ばれる二価の基であり、



(式中、Z は  $-\text{CH}_2$  及び 0 からなる群より選ばれる基であり、

Y は、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{SH})-$ 、 $-\text{CH}(\text{SAc})-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 、 $-\text{CHCl}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})-$  及び  $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{C}(=\text{O})-$  から

なる群より選ばれる基であり、

$R_1$  は、水素、 $-\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{MeNH}-$ 、 $\text{Me}_2\text{N}-$ 、 $\text{EtNH}-$ 、 $\text{Et}_2\text{N}-$ 、 $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{NH}-$ 、 $n$ -プロピル- $\text{NH}-$ 、 $i$ -プロピル- $\text{NH}-$ 、シクロプロピル- $\text{NH}-$ 、 $i$ -プロピル- $\text{NMe}-$ 、ブチル- $\text{NH}-$ 、ピロリジン-、フェニル- $\text{NH}-$ 、フェニル $(\text{CH}_2)_3\text{NH}-$ 、 $\text{HONH}-$ 、 $\text{MeONMe}-$ 、 $\text{NH}_2\text{NH}-$ 、 $\text{CH}_3\text{O}-$ 、 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{O}-$ 、 $\text{Me}_2\text{CHCH}_2\text{O}-$ 、 $\text{H}-$ 、 $\text{CF}_3-$ 、 $\text{BrCH}_2-$ 、 $\text{ClCH}_2-$ 、 $\text{N}_2\text{CH}-$ 、 $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}-$ 、 $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$  及び  $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OAc})\text{CH}_2\text{O}-$  からなる群より選ばれる基であり、

$R_2$  は、 $-\text{CH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CONH}_2$  及び  $-\text{CO}_2\text{H}$  からなる群より選ばれる基であり、

$n$  は 0 ~ 15 の整数であり、 $m$  は 0 ~ 15 の整数であり、但し、 $n+m$  の合計は 11 ~ 15 であり、

但し、

$Y$  が  $\text{CH}_2$  であり、 $n$  が 4 であり、 $m$  が 7 であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $R_1$  は  $-\text{CF}_3$  及び水素からなる群より選ばれる基ではなく、

$Y$  が  $\text{CH}_2$  であり、 $n$  が 5 であり、 $m$  が 7 であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $R_1$  は  $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $-\text{NHOH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CN}_2$ 、及び  $-\text{C}(\text{O})\text{OEt}$  からなる群より選ばれる基ではなく、

$Y$  が  $\text{CHCl}$  であり、 $n$  が 4 であり、 $m$  が 7 であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $R_1$  は  $\text{NH}_2$  ではなく、

$Y$  が  $\text{CH}(\text{OH})$  であり、 $n$  が 4 であり、 $m$  が 7 であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき  $R_1$  は  $\text{NH}_2$  ではなく、

$Y$  が  $\text{C}(=\text{O})$  であり  $n$  が 4 であり、 $m$  が 7 であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $R_1$  は  $\text{NH}_2$  及び  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-$  ではなく、

$Y$  が  $\text{CH}_2$  であり、 $4 \leq n \leq 9$  であり、 $4 \leq m \leq 7$  であり、 $R_2$  が  $\text{CH}_3$  であるとき、 $R_1$  は  $\text{NH}_2$  及び  $\text{OH}$  ではない。))



## 【発明の詳細な説明】

【0001】

技術分野

本発明は、オレアミド (oleamide) アゴニスト及び脂肪酸アミド加水分解酵素の阻害剤として役立つ化合物に関する。より詳細には、本発明は、グリア細胞におけるギャップ結合が媒介する化学的及び電氣的伝達阻害用のオレアミドアゴニストに関する。

背景

オレアミド(1)は、睡眠回復 (sleep recovery) における睡眠妨害及び睡眠消失 (disappear) の状態下において脳脊髄液中に蓄積することが示された内在性の脂肪酸一級アミドである (Cravatt et al. (1995) Science 268, 1506-1509; Lerner et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 9505-9508; Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580-590)。この物質は、腹腔内又は静脈内注射により投与したとき、構造的に特異的な態様で、動物における生理学的睡眠を誘導することが示された。生物学的シグナル伝達分子の新規なクラスのプロトタイプメンバーとしての役割と一致して、オレアミドの内在濃度の酵素的調節が報告され、提案されてきた。

脂肪酸アミド加水分解酵素 (FAAH、オレアミド加水分解酵素) は、1をオレイン酸に分解する膜内在性タンパク質であり、睡眠誘発性を有する酵素の強力な阻害剤 ( $K_i = 13 \mu\text{M}$ ) であることが詳述されている。FAAHの精製、特徴付け、クローニング、発現及びニューロン内分布が開示されており、カンナビノイド受容体の内在性リガンドとして役立つアナンドアミド (anandamide) を含む範囲の脂肪酸アミドを加水分解する能力を有することが見いだされた。

アナンドアミドとは対照的に、この新規なクラスの生物学的シグナル伝達物質のメンバーの興味深い特徴は、一級アミドであることであり、このことは、その蓄積及び放出が、一級アミドにおける短ペプチドホルモン及びメッセンジャーの終結 (terminating) と類似の態様で制御されることを示唆する (Patterson et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 5938-5945; Cravatt et al. (1996) Nature 384, 83-87; Giang et al. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 2238-224

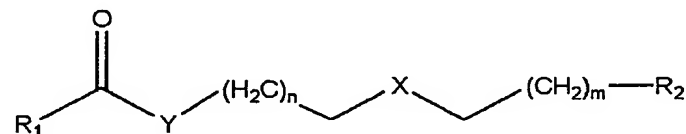
2; Merkler et al. (1996) Arch. Biochem. Biophys. 330, 430-434; Devane et al. (1992) Science 258, 1946-1949; Johnson et al. (1993) Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids 48, 429-437; Di Marzo et al. (1995) Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids 53, 1-11)。

# 【0002】

## 発明の要旨

本発明は、ギャップ結合連絡の阻害剤に向けられる。より詳細には、本発明の1つの側面は、グリア細胞におけるギャップ結合媒介性の化学的及び電気的伝達を阻害するオレアミドアゴニスト活性を有する化合物に向けられる。好ましい化合物は下記の構造により表される。

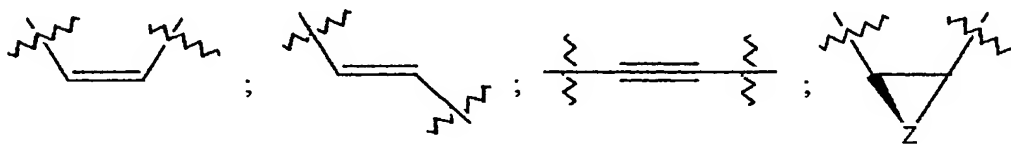
# 【0003】



# 【0004】

(式中、Xは下記構造により表される二価の基なかの1つであり、

# 【0005】



# 【0006】

(式中、Zは、-CH 又は 0であり、

Yは、-CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)-, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, -O-, -NH-, -CH(SH)-, -CHSAc)-, -CH(OH)-, -CHCl-, -C(=O)-, -C(=O)CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>NHC(=O)-又は-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)C(=O)-から選ばれる2価の基であり、

R<sub>1</sub>は、水素、-NH<sub>2</sub>, OH, MeNH-, Me<sub>2</sub>N-, EtNH-, Et<sub>2</sub>N-, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>NH-, n-プロピル-NH-, i-プロピル-NH-, シクロプロピル-NH-, i-プロピル-NMe-, ブチル-NH-

-, ピロリジン-, フェニル-NH-, フェニル(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH-, HONH-, MeONMe-, NH<sub>2</sub>NH-, CH<sub>3</sub>O-, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-, Me<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>O-, H-, CF<sub>3</sub>-, BrCH<sub>2</sub>-, ClCH<sub>2</sub>-, N<sub>2</sub>CH-, HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-, (HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N-, HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-又はHOCH<sub>2</sub>CH(OAc)CH<sub>2</sub>O-から選ばれる基であり、

R<sub>2</sub>は、-CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CONH<sub>2</sub>又は-CO<sub>2</sub>Hから選ばれる基であり、

nは0~15の整数であり、mは0~15の整数であり、但しn+mの合計は11~15であり、

但し、YがCH<sub>2</sub>、nが4、mが7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>は-CF<sub>3</sub>及び水素からなる群より選ばれる基ではなく、

YがCH<sub>2</sub>、nが5、mが7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>は-CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>Cl, -NHOH, -C(O)NH<sub>2</sub>, -CN<sub>2</sub>及び-C(O)OEtからなる群より選ばれる基ではなく、

YがCHCl、nが4、mが7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>はNH<sub>2</sub>ではなく、

YがCH(OH)、nが4、mが7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>はNH<sub>2</sub>ではなく、

YがC(=O)、nが4、mが7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>はNH<sub>2</sub>及びCH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-ではなく、

YがCH<sub>2</sub>、4 ≤ n ≤ 9、4 ≤ n ≤ 7及びR<sub>2</sub>がCH<sub>3</sub>であるとき、R<sub>1</sub>はNH<sub>2</sub>及びOHではない。  
) )

本発明の別の側面は、グリア細胞と前記のオレアミドアゴニストとを接触させることによる、グリア細胞におけるギャップ結合媒介性化学的及び電気的伝達を阻害する方法に向けられる。

#### 【0007】

#### 発明の詳細な説明

本発明は、オレアミドアゴニスト及び脂肪酸アミド加水分解酵素の阻害剤として役立つ化合物に関する。より詳細には本発明は、グリア細胞におけるギャップ結合媒介性化学的及び電気的伝達の阻害に対するオレアミドアゴニストに関する。

オレアミドは、ラットグリア細胞において、カルシウム波伝播への影響なしにギャップ結合媒介性の細胞間化学的及び電気的伝達を阻害するという本発明者等

の知見は、この知見が生物学的に活性な脂質の新規なクラスについての作用の重要な部位を構成することを示唆している。ギャップ結合の効果的な阻害剤は、オレアミド及びアラキドナミド (arachidonamide) がプロトタイプメンバーである脂肪酸一級アミドの2つのクラスへ分類される。これらのなかで、オレアミドが最も効果的であり、ギャップ結合の阻害のための構造的な要求が十分に定義されている。阻害には、鎖の長さが16~24炭素原子、最適には16~18炭素原子であり、水素結合を許容するが、必ずしも寄与しない分極した末端カルボニル、 $\Delta^9$ シス二重結合及び疎水性メチル末端が必要とされる。これらの制約の中で、ある範囲の修飾が許容され、それらの中の多くを利用してインビボ特性が増強されるだろう。FAAH加水分解による不活性化を遅延又は回避する前記の物質に加えて、オレアミドアゴニスト及びFAAH阻害剤として役立つことが同定された特に興味深い薬剤のセットが同定された。

オレアミドによるギャップ結合の阻害は、多数のメカニズムと一致している。膜結合タンパク質の高次構造に作用し、ギャップ結合タンパク質と直接相互作用する大部分のバルク (bulk) 膜の流動性又は膜-タンパク質界面における振動が検討されている (Lars Bastiaanse et al. (1993) J. Membrane Biol. 136, 135-145)。同様にして、本発明者等は、ギャップ結合の進行性の閉鎖 (progressive closure) 及び最終的な崩壊 (ultimately collapse)、更にはギャップ結合のゲートされた閉鎖 (gated closure) を観察した。本明細書に開示した化合物及びその特性の原因となる定義された構造的な特徴は、メカニズムのなかで識別することを補助し、睡眠又は気分の障害、鎮痛及び高度な神経機能に関連する障害に適用可能な新規な神経調節薬を提供するだろう。

#### 【0008】

実施例1: 生物学的に活性な脂質オレアミドによるギャップ結合連絡を阻害についての類似体の化学的要求及び設計

動物における睡眠誘導特性に加えて、オレアミドはセロトニン作動性系に作用すること (Huidobro-Toro et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 8078-8082) 及び構造特異的な態様でギャップ結合連絡をブロックすることが示されている。更に、ラットグリア細胞においてギャップ結合媒介性化学的及び電気的伝

達を阻害することが見いだされているが、機械的に刺激された又はグルタミン酸により誘導されたカルシウム波伝播には阻害作用を及ぼさないのも、これにより以前は識別不可能であった2つのグリア細胞伝達系を分離した。CNSにおいて細胞間の化学的及び電気的シグナル伝達の中心的役割を与えられていることを考慮すると、グリア細胞のギャップ結合チャンネルのオレアミド不活性化は、睡眠を含む高次神経機能に影響するだろう。

#### 脂肪酸一級アミド類似体

試験した化合物の第1のシリーズは、天然脂肪酸及び関連する合成類似体であった、図2(Arafat et al. (1989) Life Sci. 45, 1679-1687; Wakamatsu et al. (1990) Biochem. Biophys. Res. Commun. 168, 423-429; Jain et al. (1992) J. Med. Chem. 35, 3584-3586)。本発明者等は、薬剤の長さ、二重結合の数、位置及び立体化学について試験した。非天然脂肪酸の一級アミドの包含を補助するこれらの研究より、内在性薬剤の構造的要求の明確な描写が明らかになった。ギャップ結合媒介性色素移動の効果的な阻害剤は、オレアミド及びアラキドナミドがプロトタイプメンバーである2つのクラスに分類される(Pinto et al. (1994) Mol. Pharmacol. 46, 516-522; Felder et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7656-7660; Abadji et al. (1994) J. Med. Chem. 37, 1889-1893; Adams et al. (1995) J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 273, 1172-1181; Adams et al. (1995) Life Sci. 56, 2041-2048; Priller et al. (1995) Mol. Pharmacol. 48, 288-292; Khanolkar et al. (1996) J. Med. Chem. 39, 4515-4519; Venance et al. (1995) Nature 376, 590-594)。

#### 【0009】

1つの二重結合を含むオレアミドに関連する薬剤について、オレフィンの存在、位置及び立体化学、更には鎖の長さが定義された関係を有することを見いだした。 $\Delta^9$ シス二重結合を含む炭素数16~24のモノ不飽和脂肪酸一級アミドは、すべてがギャップ結合媒介性色素移動の効果的な阻害剤であることを見いだした。 $\Delta^9$ 二重結合(18:0)の脱離又はトランス二重結合(18:1<sup>n-7トランス</sup>)による置換によっては、試験した濃度において観察できる阻害は生じなかった。鎖の長さを14炭素原子(14:1<sup>n</sup>)に短縮することにより、活性の損失を引き起こしたが、鎖の延長は

阻害作用をわずかに低下させた。 $\Delta^9$ シス二重結合:  $14:1^9 \ll 16:1^9 = 18:1^9 > 20:1^9 = 22:1^9 = 24:1^9$  (すなわち、鎖の長さ: 二重結合位置) を有するように与えられた長い脂肪酸一級アミドについて、鎖の長さにおける更なる実質的な傾向は観察されなかった(図2)。

シス二重結合の位置は、効力に対して十分に定義された作用を有していた。 $\Delta^9$ シスオレフィン是最も強力な阻害作用を示し、その位置をいずれかの方向に移動させたときには効力は通常場合は低下した。このことは、オレアミドシリーズ( $18:1$ )においてなされた比較において明らかであり、特にエイコセノアミド (eicosenoamide) シリーズ( $20:1$ )では明らかであり、 $\Delta^9$ 部位からの距離が増加するにつれて効力は低下した。オレアミドにおけるこの位置は構造における中心であり、カルボキサミド又はメチル末端との関係を潜在的に示しているけれども、パルミトレアミド( $16:1^9$ )の強力な活性は、重要なアミドとの位置的な関係があることを示唆している。

このことを、 $20:1$ ,  $22:1$ 及び $24:1$ シリーズで確認した。ここでは、阻害活性は、メチル末端から9炭素原子の位置にシス二重結合を有する天然異性体よりも、合成 $\Delta^9$ オレフィンにおいて優先的に観察された。すなわち、 $20:1^9 = 20:1^{11}$ ,  $22:1^9 > 22:1^{13}$  及び  $24:1^9 > 24:1^{15}$  であった。この点において、ヒトの脳脊髄液において検出されたエルカミド (erucamide) (Hasler et al. (1991) Am. J. Physiol. 261 (Cell Physiol. 30), C161-C168) はギャップ結合の阻害剤ではなく、ラットにおいて生理学的睡眠を誘導しないことは興味深い(図2)。

ポリ不飽和脂肪酸一級アミドについて、2つの二重結合を含むものは適度の活性を示した。典型的には、シス $\Delta^9$ 二重結合を有するリノールアミド (linoleamide) ( $18:2$ )を除くオレアミドと比較してかなり低下した。リノールアミドでさえも阻害効力はオレアミドよりも低く、このことは追加の $\Delta^{12}$ シス二重結合が有益でないことを示している (図2)。

#### 【0010】

3つの二重結合を含む脂肪酸一級アミドはより効果が低く、特に $50 \mu\text{M}$ ではすべてのメンバーが無効であった。これらには、オレアミドの $\Delta^9$ シス二重結合を組み込んだ $\alpha$ -リノレナミド( $20:3^{9,12,15}$ )及び代替の $\Delta^8$ 又は $\Delta^{11}$ シス二重結合

を組み込んだ20:3<sup>6,11,14</sup>が含まれた。この一般化に対する例外は、 $\gamma$ -リノレンアミド(18:3<sup>6,9,12</sup>)であり、有効ではあるが、強力な阻害剤ではないことが証明された。同様に、オレアミドのように強力ではないけれども、4つのシス二重結合を含むアラキドナミドはギャップ結合媒介性色素移動の有効な阻害剤であった。この作用は、5つのシス二重結合を含む脂肪酸一級アミドについても観察されたが、6つの二重結合を有するものでは失われた(図2)。

これらの結果は、ギャップ結合媒介性色素移動を阻害する脂肪酸一級アミドの2つのクラスと一致した。第1のより強力なクラスのプロトタイプメンバーはオレアミドであり、第2のやや効果の低いクラスはアラキドナミドを含んでいる。(図2)。

#### カルボキサミド類似体

カルボキシレート末端における要求についての広範な研究は、驚くべき耐性があることを明らかにした、図3。オレイン酸は試験した濃度においては不活性であり、オレイルアルコール、オレイン酸メチル又はオレイン酸エチル及び酢酸オレイルは有効性が進行的に減少することを見いだした。オレイン酸 (Hirschi et al. (1993) Am. J. Physiol. 265 (Cell Physiol. 34), C1517-C1526; Burt et al. (1991) Am. J. Physiol. 260 (Cell Physiol. 29), C439-C448)、アラキドン酸 (Giaume et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 5577-5581. Massey et al. (1992) Am. J. Physiol. 263 (Cell Physiol. 32), C494-C501)及び $\alpha$ -リノレン酸 (Hasler et al. (1991) Am. J. Physiol. 261 (Cell Physiol. 30), C161-C168)は、ラットの心筋細胞、線条体の星状膠細胞及びラット肝上皮細胞のそれぞれにおいてギャップ結合を阻害することが報告されている。ほとんどの脂肪酸が試験されていないけれども、鎖の長さ、不飽和の程度及び部位及び二重結合の立体化学を含むギャップ結合阻害に対する構造的要求についての限られた研究が本明細書に詳述されたものに続いている (Aylsworth et al. (1986) Cancer Res. 46, 4527-4533; Spray et al. (1990) Am. J. Physiol. 258 (Cell Physiol. 27), C195-205)。

【0011】

図3に詳述する比較は、ラットグリア細胞における最も効果的な脂肪酸誘導体

は一級アミドであることを示唆している。しかしながら、広範囲の二級又は三級アミドもギャップ結合媒介性色素移動の強力な阻害剤であることが見いだされた。したがって、一級アミドの水素結合供与体能力は、その特性の発現に必須ではない。これらのうちのほとんどがオレアミドと等しい効力を有し、試験したシリーズは小さい二級又は三級アミド置換基を好む明らかな傾向を示した。このことは、 $R = \text{NH}_2 \geq \text{MeNH} > \text{Et}_2\text{N} > \text{c}-(\text{CH}_2)_4\text{N} > \text{PhNH}$ の効果の比較において明らかである。典型的には二級アミドは対応の三級アミドよりも強力であるけれども、N-メチル及びN,N-ジメチルアミド ( $\text{MeNH} = \text{Me}_2\text{N}$ )の比較可能な効力は注目すべきである。このことは、小さいアミド置換基についての要求と一致し、試験した薬剤の中で最も強力なのはO-メチル、N-メチル ヒドロキサミド ( $R = \text{MeONMe}$ )であった。オレイン酸のエステルは50-100  $\mu\text{M}$ では不活性であったけれども、オレイルアルデヒドは驚くべきことに効果的であり、一方対応のジメチルアセタールは不活性であることが証明された。オレイルアルデヒドはオレアミドとほぼ等しい効力を有し、強力な求電子性かつ分極したカルボニルを有する関連する薬剤  $R = \text{CF}_3$ はオレアミドよりも強力であることを見いだした。対照的に、関連するが求電子性の低いケトン ( $R = \text{BrCH}_2 > \text{ClCH}_2$ )は実質的に効果が低かった。したがって、より分極した又は求電子的なカルボニルを好む滑らかな傾向が観察された。前者の2つの薬剤 ( $R = \text{H}, \text{CF}_3$ )の挙動は特に有意である。なぜなら、脂肪酸アミド加水分解酵素の強力な阻害剤(それぞれ、 $K_i = 190$  及び  $1 \text{ nM}$ )でもあるからである。前記の薬剤は、オレアミドの有効なアゴニスト及びその分解の原因となる酵素の強力な阻害剤として役立つ二重の活性を有する。両方とも可逆的ギャップ結合阻害を示し、薬剤を含む培地の除去及び新鮮培地による置換により、完全なギャップ結合機能を回復した。

したがって、構造的に要求されないけれども、多数の効果的な置換基をカルボキサミドについて作成した。現在まで、有効な阻害剤は、潜在的に水素結合を許容することができるが必ずしも供与しない分極化カルボニルをC末端に有している。

#### 【0012】

オレイルエタノールアミド、アナンダミド (Anandamide) 及び関連構造



修飾カルボキサミドの重要なサブセットはエタノールアミド誘導体である(Bachur et al. (1965) J. Biol. Chem. 240, 1019-1024; Ramachandran et al. (1992) Biochem. Arch. 8, 369-377; Schmid et al. (1990) Prog. Lipid Res. 29, 1-43; Hanus et al. (1993) J. Med. Chem. 36, 3032-3034)。前述において検討したように、アナンダミド及びオレアミドは、カルシウム波伝達に影響することなくギャップ結合連絡(色素移動及び電気的共役)を選択的に阻害することが示された(ただし、オレアミドのほうがより強力である)。グリア細胞におけるこの作用は、アナンダミド及びオレイルエタノールアミドはギャップ結合媒介性色素移動を阻害するだけではなく、機械的刺激又は局所的グルタメートの適用により生成したアストロサイトのカルシウム波の伝播をブロックするという報告(Venance et al. (1995) Nature 376, 590-594)とは異なる。したがって、オレイン酸の対応のエタノールアミド及びオレイン酸及びアラキドン酸のビスー(エタノール)アミドを図4に示されるようにして試験した。

オレアミドは、 $20 \mu\text{M}$ においてオレイルエタノールアミドよりも強力であり、アナンダミドよりも識別可能に強力であること(但し、両方とも $50 \mu\text{M}$ において是有効な阻害剤である。)が証明された。オレイルエタノールアミド( $\text{R} = \text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ )の有効な特性は、この物質は活性な内在性物質の別のクラスの重要なメンバーであり、ヒドロキシル基を欠くオレアミドであるN-エチルオレアミド( $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5\text{CH}_2\text{NH}$ )及びヒドロキシル基の代わりにメチル基を含むN-プロピルオレアミド( $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ )よりも強力でないことを示唆している(図3)。

更にオレイルプロパノールアミドは比較可能な特性を示した。したがって、オレイルエタノールアミドのヒドロキシル基はギャップ結合阻害特性に寄与せず、実際にこの特性を減少させるだろう。同様の知見がアラキドニルアミド( $\text{R} = \text{NH}_2$ )及びアナンダミド( $\text{R} = \text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ )の比較においてなされた。ここでは、後者がより強力ではなかった。比較可能な知見が、CNSカンナビノイド受容体への結合についてのアナンダミド類似体( $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH} > \text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ )の試験においてなされた。対照的に、ビスー(エタノール)アミドは $50 \mu\text{M}$ においてギャップ結合の阻害において無効であり、低活性を示すかさ高の三級アミドの挙動と一致した。

## 【0013】

最近の研究は、強力な内在性カンナビノイド受容体アゴニストとしての2-アラキドニルグリセロールの単離について詳述し(Mechoulam et al. (1995) *Biochem. Pharmacol.* 50, 83-90)、1-オレオイル-2-アセチルグリセロールを含むジアシルグリセロールによるチャイニーズハムスターV79細胞におけるギャップ結合阻害を開示している(Aylsworth et al. (1986) *Cancer Res.* 46, 4527-4533)。したがって、本発明者等は、強力な阻害剤としてのラセミ化合物の及び(2S)-1-オレオイル-2-アセチルグリセロールの両方を評価した。単純なオレイン酸エステルの挙動と一致して(図3)、両者ともラットグリア細胞ギャップ結合媒介性色素移動の阻害剤ではなかった。

## メチル末端

脂肪酸一級アミドの研究より、脂肪酸の鎖長はギャップ結合阻害特性を実質的に減少させなかった(ただし、 $\Delta^9$ シス二重結合:  $18:1^9 > 20:1^9 = 22:1^9 = 24:1^9$ を組み込んでいることを条件とする)。このことは、メチル末端がアゴニスト特性を失うことなしにアルキル鎖による延長に適応することができることを示している。同様に、メチルエステル( $R = CH_2OCH_3$ )によるメチル末端のキャッピングはギャップ結合阻害に影響しなかった。対照的に、この部位における極性基の導入は阻害特性を除去した。したがって、対照的な  $18:1^9$  ジカルボキサミド及び末端アルコール及びカルボン酸は、 $50 \mu M$ においてギャップ結合阻害を示さなかった(図5)。

## 【0014】

## 推定される前駆体

オレアミドは、オレオイル-CoAからの形成がアシル-CoA:グリシンN-アシルトランスフェラーゼにより触媒され、グリシンの $\alpha$ -ヒドロキシル化の時にペプチジルグリシン $\alpha$ -アミド化モノオキシゲナーゼ(PAM)又は密接に関連する酵素により放出されるN-オレオイルグリシンアミド誘導体として貯蔵されるかもしれないという観点について、以前にそのような過程の可能性が実験的に証明されている(Merkler et al. (1996) *Arch. Biochem. Biophys.* 330, 430-434)が、N-オレオイルグリシン誘導体のセットについて試験した。N-オレオイルグリシン及

びN-オレオイルグリシンアミドは、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害剤として無効であった(図6)。したがって、オレアミド及びN-オレオイルグリシンアミド(オレオイルグリシンアミドによるペプチド又はタンパク質の終了(terminating)の代表である)に対する推定の貯蔵性前駆体は、ギャップ結合を阻害することができなかった。興味深いことに、N-オレオイルグリシンエチルエステルはわずかに強力ではないが、効果的な阻害剤であり、ほとんどが末端カルボキサミドにおいて単純な別の許容可能なN-置換を表す傾向にあった(図3参照)。

対照的に、N-オレオイルサルコシン及びそのエチルエステルは有効な阻害剤であることが見いだされた。最初に驚くべきことに、この知見は、N-オレオイルグリシンについては観察されるがN-オレオイルサルコシンについては支持されない遊離酸又は脱保護カルボキシレートの分子内水素結合回転異性体が、ギャップ結合阻害に要求される分子内水素結合受容体能力を崩壊するアミドカルボニルと結合(tie up)することを示唆している。

#### 【0015】

##### オレフィンにおける修飾

一連の薬剤 2-8 (図7)を試験して、オレフィンの役割を定義し、活性に対する立体配置の依存性についての洞察を提供した(図7)。したがって、飽和した薬剤であるオクタデカナミド及びトランス-9-オクタデセナミドは無効であった(図2参照)が、9-オクタデシナミド(octadecynamide) (2)はオレアミドよりわずかに活性の低い強力な阻害剤であった。オレアミドよりも不活性な18:0及び18:19-トランス体と極めて類似しているその立体配置的特徴は、シスオレフィンの立体配置に加えて $\pi$ -系の適切な状態が重要であることを示唆している。このことを一致して、エポキシド<sup>3</sup>及びシクロプロパン<sup>4</sup>ともにオレアミドの立体配置的特徴を密接に模倣しているけれども、エポキシド<sup>3</sup>は不活性であり、シクロプロパン<sup>4</sup>は活性が低かった。これに対する多数のもっともらしい説明が存在するけれども、<sup>4</sup>はシクロプロパンの部分的 $\pi$ 特性からの利益を得ているだろう。代わりに、<sup>3</sup>におけるエポキシド酸素の組み込みは薬剤の疎水特性を変化させ、ギャップ結合阻害を減少させるだろう。いずれかの説明と一致して、薬剤<sup>5</sup>及び<sup>6</sup>はギャップ結合媒介性色素移動についての弱い阻害剤であり、オレアミドのシス

$\Delta^9$ 二重結合を有する5はより強力であった。二重結合の除去により阻害特性は減少するが完全には除去されないことは、二重結合の $\pi$ 特性及びヘアピン構造についての課された立体配置の優先度についての重要な役割を示唆している。このことと一致して、この構造へのベンゼン環の組み込みにより、ギャップ結合媒介性色素移動を阻害する薬剤7-10が提供された。重要なことに、8はシリーズの中で最も強力であり、オレアミドとほぼ等しい効力を有し、オレアミドのヘアピン構造を最も密接に模倣していることが見いだされた。このことは7によって密接に従われ、これは8及びオレアミドの延長バージョンを示している。対照的に、9及び10は効果が低く、共にオレアミドのヘアピン構造に対する代替物を模倣している。

#### 【0016】

##### 連結鎖及び酵素阻害剤の修飾：二重の活性

脂肪酸一級アミドの試験において、カルボキサミド及びシス二重結合の間の距離の増加又は短縮は一般的にギャップ結合阻害を減少させることが確立された。これらの研究に加えて、オレフィン及びカルボキサミドを結合する7炭素鎖におけるその他の修飾を試験した(図8)。第1の薬剤セットは、酵素的加水分解による分解速度を遅くする修飾を含んでいる(Maurelli et al. (1995) FEBS Lett. 377, 82-86)。 $\alpha$ -メチルオレアミド及び $\alpha$ ,  $\alpha$ -ジメチルオレアミドは共にギャップ結合の強力な阻害剤であり、オレアミドよりも遅くFAAH加水分解に付されることが期待されるだろう。更に、末端一級カルバメート( $X = O$ )又はウレタン( $X = NH$ )を含む薬剤も強力な阻害剤であった。後者は特に興味深いものであった。なぜなら、長さにおいて2炭素分長く、末端から9ではなく11炭素に二重結合を有するオレイルアミンの対応ウレタンは本質的に不活性であるからである(図3)。同様に、 $\alpha$ -ヒドロキシオレアミド( $X = CHOH$ )、 $\alpha$ -クロロオレアミド( $X = CHCl$ )及び $\alpha$ -アセチルチオオレアミド( $X = CHSAc$ )は有効な阻害剤であった。但し、遊離のチオール( $X = CHSH$ )は無効であった。後者の薬剤は、その無効性の原因であるジスルフィド形成を受けている。図8における最後の2つの薬剤は、FAAHの有効な阻害剤(それぞれ、 $K_i = 16$  及び  $17$  nM)を構成する。両者共にオレアミドアゴニスト及びその分解の原因となるFAAHの阻害剤(Koutek et al. (1994) J. B

iol. Chem. 269, 22937-22940)として役立つ。両者について、ギャップ結合阻害は可逆的であり、新鮮培地におけるグリア細胞の懸濁後に完全活性を回復した。

【0017】

実施例2：脂質オレアミドはグリア細胞におけるギャップ結合連絡及びカルシウム波伝播をデコンボルーション (deconvolute) する証拠

オレアミドは、睡眠剥奪ネコ (sleep-deprived cat) の脳脊髄液から最初に単離された睡眠誘導性脂質である。オレアミドは、ラットグリア細胞間のギャップ結合媒介性連絡を強力かつ選択的に不活性化する。対照的に、オレアミドは同一の細胞型において機械的に刺激したカルシウム波伝播に作用しなかった。ギャップ結合連絡の阻害剤として伝統的に使用されるその他の化合物は、ヘプタノール及び $18\beta$ -グリチルレチン酸 ( $18\beta$ -GA) と同様に、ギャップ結合連絡だけでなく細胞間カルシウムシグナル伝達をもブロックした。中枢神経系機能において細胞間の小分子及び電気的シグナル伝達の中心的役割を果たすので、グリア細胞ギャップ結合チャンネルのオレアミド誘導性不活性化は、脳細胞間における連絡の調節に役立ち、その場合、睡眠誘導等の高次ニューロン事象に影響するだろう。

細胞相互作用についての分子メカニズムについての研究は、細胞間連絡の特異的形態を選択的に標的とする天然物の欠乏により伝統的に妨げられてきた。直接の細胞間接触についてのある第1の態様は、特定の細胞表面膜構造であるギャップ結合におけるチャンネルを通した分子の細胞から細胞への伝達に関連している (Kumar and Gilula, 1996)。ギャップ結合は、細胞間における主に大きさに基づく選択性による分子の受動拡散を許容し、1000 Daよりも小さい分子の独占的移動を許容する。このような大きさに選択的な分子連絡は、胚形成の間の細胞間の調節事象及び心筋における細胞の同期化を含む多細胞性機能の多数の形態に必須である (Warner et al., 1984; Dewey and Barr, 1962)。以前に、本発明者等は、睡眠剥奪ネコの脳脊髄液から最初に単離した新規な睡眠誘導性脂質である9(Z)-オクタデセナミド又はオレアミドの構造決定について報告している (Cravatt et al., 1995)。オレアミドに関連する細胞作用を同定し特徴付けるための本発明者等の連続的な努力において、本発明者等は、オレアミドは、ラットグリア細胞におけるカルシウム波伝播を変化させることなく、ラットグリアにおけるギャッ

ブ結合連絡を強力かつ選択的にブロックすることをここに報告する。

#### 【0018】

結果：ギャップ結合色素結合及び電氣的共役

培養ラットグリア細胞におけるギャップ結合媒介性細胞間連絡を、蛍光色素であるルシファーイエローの微量注入及びスクレーパーローディング (scrape-loading) (El-Fouly et al. (1987) *Expl. Cell Res.* 168, 422-430.)により評価した。対照条件下においては、細胞間ルシファーイエロー拡散によりモニターしたとき微量注入したグリア細胞は強力な色素結合を示したが(図 10A~10C)、50  $\mu$ M オレアミドによる細胞の10分間の前処理により、色素移動が完全にブロックされた(図 10D~10F)。同様に、ルシファーイエローをスクレーパーローディングしたグリア細胞は、オレアミドによる前処理により完全に排除される有意な色素移動を示した(図 10G~10I)。色素移動のオレアミド誘導性阻害の用量反応及び時間経過の研究を行った(それぞれ、図 11J~11K)。低容量のオレアミド (20  $\mu$ M) は、グリア細胞の色素移動を有意に阻害したが、長時間(4時間)のブレインキュベート時間を必要とした。ギャップ結合透過性に対するオレアミドの作用は安定かつ完全に可逆的であることが証明された。したがって、オレアミドに24時間まで連続的に曝露したグリア細胞においては色素結合の回復は観察されなかったが、培地の変更によりオレアミドを除去すると、結合連絡は1時間以内に対照レベルに回復した(図 10Kの「回復」を参照)。

ギャップ結合透過性に対するオレアミドの作用についての追加の測定として、グリア細胞ギャップ結合伝導性を、オレアミドの存在下、二重の全細胞記録技術を使用することにより測定した(図 12)。ギャップ結合媒介性色素移動と一致して、オレアミド (50  $\mu$ M) はグリア細胞における結合性電氣的共役を完全にブロックした。

#### 【0019】

構造-活性の関係

オレアミドの構造-活性の関係を評価するために、幾つかの化学類似体を合成し (Cravatt et al. (1996) *J. Am. Chem. Soc.* 118, 580-590)、ギャップ結合透過性をブロックする能力について試験した(図 13)。オレアミドとは対照的に、

オレイン酸及びトランス-9-オクタデセナミドは、たとえ高用量であってもグリア細胞色素結合に対する作用を示さなかった。興味深いことに、オレイン酸は、 $\alpha 1$ コネキシン(Cx43)を発現するラットグリア細胞様ラット心筋細胞においてギャップ結合連絡を阻害することが以前に証明されている。このことはオレアミドに対して選択的なグリア細胞の応答は、おそらくは $\alpha 1$ コネキシンの一次構造よりも細胞型の機能であることを示している。オレアミドに加えて、その他のシス-モノ不飽和脂肪酸アミドは、阻害の程度の変化を示した。50  $\mu$ M シス-11-オクタデセナミドのみが結合性カップリングにわずかに作用したが、100  $\mu$ M レベルにおいては、化合物は色素移動を完全にブロックした。オレイルエタノールアミド及びシス-8-オクタデセナミドは、50  $\mu$ M レベルにおいては色素移動の有意な阻害剤であったが、低用量ではオレアミドよりも強力でないことが証明された。したがって、化合物に阻害特性を与えるオレアミドの鍵となる化学的特徴は、一級アミド部分及びアルキル鎖にそった $\Delta^9$ 部位における不飽和の程度の位置についての識別可能な優先度を有するアミド基及びシス-二重結合であるらしい。グリア細胞に対するオレアミドの作用を、ギャップ結合連絡についての確立されたその他の阻害剤の活性と比較した。18 $\beta$ -GA 及びアナンダミドは、オレアミドと比較可能な用量において色素移動をブロックしたが、結合連絡の阻害には高濃度のヘプタノール (3 mM) を必要とした(図 13)。

#### $\beta 1$ コネキシン-トランスフェクトBHK細胞に対するオレアミドの作用

ギャップ結合を含む $\alpha 1$ に対するオレアミドの作用が $\alpha 1$ 結合型に特異的であるか否かを評価するために、本発明者等は $\beta 1$ コネキシンでトランスフェクトしギャップ結合含有 $\beta 1$ を生成するBHK細胞における色素移動特性について測定した。この分析について、ラットグリア細胞測定に使用したのと同じのアッセイ条件を適用した。50  $\mu$ M オレアミドがBHK/ $\beta 1$ 細胞間において色素移動を急速かつ完全にブロックしたが(図14D)、オレイン酸及びトランス-9-オクタデセナミドは効果を示さなかった(図 14E)。アナンダミド、18 $\beta$ -GA及びヘプタノール等のその他の阻害性化合物は、BHK/ $\beta 1$ 細胞間において色素移動に対する阻害作用を有し、これはラットグリア細胞において観察されたものと非常に類似していた(図 15 E 及び図 13を比較)。

## 【0020】

## ギャップ結合性細胞間連絡及びカルシウム波

脳細胞集団におけるカルシウム波はギャップ結合依存性態様で伝播することができるので、本発明者等は続いてグリア細胞間のカルシウム波伝達に対するオレアミドの作用について評価した。細胞内カルシウム指示薬であるFluo-3を使用してグリア細胞集団内における細胞内カルシウムレベルの変化をモニターしたところ、本発明者等は50  $\mu$ Mオレアミドは機械的に誘導されたカルシウム波伝播に影響しなかったことを見いだした(図16D~16F及び図9)。ギャップ結合連絡及びカルシウム波伝達に対するオレアミドの対照的な作用に興味を持ち、本発明者等はオレアミドの特性を他のギャップ結合阻害剤と比較した。18 $\beta$ -GA (40  $\mu$ M) 及びヘプタノール (3 mM) はその阻害活性において差異を示さなかったが、グリア細胞における色素移動及びカルシウム波伝播を共に完全にブロックした。(図16C及び図9)。対照的に、本発明者等は、オレアミド様アミド化脂質は活性においてオレアミドに類似し、ギャップ結合連絡(色素移動及び電気的共役)をカルシウム波伝達に影響することなく選択的に阻害することを見いだした(図9)。

乳腺細胞、マスト細胞及びインシュリン分泌細胞において、カルシウム波伝播は、刺激された細胞からのATPの細胞外放出に依存する過程により伝播することが示されている。グリア細胞がATP依存性でカルシウム波を伝達するか否かを試験するために、グリア細胞をP2-プリン受容体アンタゴニストであるスラミンで処理し、続いてカルシウム波伝達について試験した。図9に示されるように、スラミン(200  $\mu$ M) は細胞におけるギャップ結合連絡に影響することなしにカルシウム波伝達をブロックした。スラミン及びオレアミドにより同時処理したグリア細胞は、ブロックされたカルシウム波伝達及びブロックされたギャップ結合連絡の組み合わされた表現型を示した。このことはこれらのグリア細胞間相互作用についての2つの経路は異なるものであり別々のものであるとする意見を支持する。

## 【0021】

 $\alpha$ 1コネキシンリン酸化の変化

ギャップ結合に対するオレアミドの作用についての分子メカニズムを定義する



ための努力において、本発明者等はオレアミドで処理したときのグリア細胞における $\alpha 1$ コネキシンのリン酸化プロフィールを試験した。 $\alpha 1$ コネキシンはウエスタンブロッティングにより3つの識別可能なアイソフォーム：非リン酸化 NP (~42 kD)及び2つのリン酸化アイソフォーム P1 (~44 kD)及び P2 (~46kD)が存在することが示されている。オレアミド(50  $\mu$ M)に曝露したとき、グリア細胞は、P1及びNPのレベルの識別可能な変化を伴わないP2アイソフォームの劇的な減少を示した(図 17、レーン 4)。グリア細胞培地からのオレアミドの除去とP2の対照レベルへの回復が関連していたので、 $\alpha 1$ リン酸化プロフィールに対するオレアミドの作用は可逆的であることが証明された。(図17、レーン 5)。 $\alpha 1$ リン酸化プロフィールにおける変化なしは、ギャップ結合連絡を阻害しない2つのオレアミド類似体であるオレイン酸又はトランス-9-オクタデセナミドに曝露したグリア細胞において検出された(図17、レーン 2~3)。

#### 検討

睡眠誘導性脂質であるオレアミドは、グリア細胞において、細胞間カルシウム波伝達を阻害することなく、色素移動及び電氣的伝導性によりモニターされたようにギャップ結合連絡をブロックするという特別の能力を示す。更に、オレアミドは、 $\alpha 1$ コネキシンタンパク質のリン酸化プロフィール、グリア細胞のギャップ結合チャンネルの本質的成分における劇的な変化を誘導する。オレアミドの存在下におけるギャップ結合の透過性及び $\alpha 1$ コネキシンP2の減少は、P2コネキシンアイソフォームは機能性ギャップ結合プラークと関連することを示す以前の研究と一致する。しかしながら、オレアミド誘導性のギャップ結合のブロックとコネキシンリン酸化P2アイソフォームとの正確な因果関係は不明のままであり、これら2つの事象間に特定の関連があるか否か決定するためにより詳細に検討する必要がある。

#### 【0022】

ギャップ結合連絡経路を除去したときにカルシウム波はグリア細胞を伝播することができるという知見は、過去において示唆されているように、グリア細胞におけるカルシウム波はギャップ結合連絡に独占的に依存する必要がないことを意味している。ギャップ結合関連カルシウム波についてのこれらの知見と過去に報

告された研究との間の詳細な関係は明らかにされている。しかしながら、P2プリン受容体アンタゴニストであるスラミンは、グリア細胞においてギャップ結合連絡に影響することなしにカルシウム波伝達をブロックするという本発明者等の知見は、乳腺細胞、マスト細胞及びインシュリン分泌細胞についての既報に類似して、ATP依存性メカニズムにより細胞間カルシウムシグナルを伝達することを示唆している。興味深いことに、グリア細胞における細胞間カルシウム波は機能性ギャップ結合なしに持続することができるとする認識は、いままでのところカルシウム波の伝達に関与するすべての細胞型の中で、ギャップ結合経路が決定的に記載されていなかった網膜等の特定の組織におけるカルシウム波の存在を説明することを補助するかもしれない。

ギャップ結合連絡に対するオレアミドの作用を研究する過程において、本発明者等は、過去において同定されたギャップ結合阻害剤、例えば $18\beta$ -GA及びヘプタノール等は、ギャップ結合チャンネルに対する阻害活性においては選択的ではなく、原形質膜のより一般的な非特異的摂動及び対応の機能として作用することの証拠を蓄積した。中間的な鎖のアルコール及びグリセロレチニク酸 (glycer rheticinic acid) 誘導体はギャップ結合の特異的な研究用のツールとしてしばしば使用されるので、将来において、細胞全体の面においてその生物学的効果が明らかにされることが示唆される。さもないと、カルシウム波伝達様の複雑な細胞現象におけるギャップ結合の役割は不明のままであろう。

オレアミドを使用してギャップ結合チャンネルに対して効果を奏する正確なメカニズムを決定することは未だ不可能であるけれども、この初期の分析からの結果は、オレアミドは、異なるコネキシンである $[\alpha 1]$ コネキシン、 $\beta$ コネキシン及び $\alpha 1$ のC末端切断変異体を含むギャップ結合チャンネルをブロックするだろうということを示している。これらの知見に基づいて、オレアミドは、脂質二重層におけるコネキシンオリゴマー又はチャンネルのある一般化された構造特性に対して効果を奏する可能性を考慮することは妥当である。このような作用のメカニズムは、カルボキシル末端ドメインの完全性又はコネキシン多重遺伝子ファミリーのメンバー間に存在するその他の多様性一次配列特性には依存しないだろう。これに関連して、オレアミド及び関連する分子、例えばアナンダミドは、インビ

ボにおけるギャップ結合チャンネルの決定用の以前適用されてきた相対的に非特異的な試薬、例えばヘプタノール及びグリセロレチニク酸等よりも特異的なプローブとして役立つ非常に有用な試薬であることが証明されるだろう。更に、オレアミドは、異なるコネキシンから構成されるギャップ結合チャンネルをブロックすることができるけれども、ギャップ結合チャンネルに対する作用の決定においては細胞特異的であるだろう。例えば、予備的な分析において (Guan et al., 未公開の知見)、本発明者等は、哺乳類の心筋細胞間のギャップ連絡特性は、ギャップ結合チャンネルがその他の哺乳類細胞型と同様のオレアミドの阻害作用に対する感受性がないことを観察した。この結果は、培養したラット心筋細胞のアラキドンイミド処理についての既報と極めて一致する。それゆえ、オレアミド等の生理活性脂質に対する細胞特異的応答は、インビボにおけるその分子の作用からの心筋の保護にとって極めて有用であろう。

#### 【0023】

最終的に、グリア細胞におけるギャップ結合透過性のブロックにより、オレアミドは、ギャップ結合により媒介される細胞間接触の化学的及び電気的形態の非存在下で、脳の機能及び生理に対する複雑な調節作用を奏し、これにより特定のカルシウム波伝達様のグリア、おそらくはグリアー神経、細胞-細胞相互作用を維持することが期待される。オレアミドがギャップ結合チャンネルに対して及ぼす顕著な効果の正確なメカニズムは不明である。切断された $\alpha 1$ コネキシンチャンネルの構造はオレアミドによる処理の後変化する。最終的に、組み立てられたギャップ結合又はその関連タンパク質との強力な直接の相互作用に加えて、最も興味深い可能性は、オレアミドは膜タンパク質及びオルガネラの脂質環境を摂動させることにより機能するため、したがって、流動性伝達物質として作用する生物学的に活性な脂質の新規なクラスを示していることである。

#### 合成プロトコル

##### 概略

$^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  nmr スペクトルを、Bruker AM-250、Bruker AMX-400 又は Bruker AMX-500 分光計のいずれかで記録した。残留プロトン性溶媒  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}} = 7.26$  ppm,  $\delta_{\text{C}} = 77.0$ )、 $d_4$ -メタノール ( $\delta_{\text{H}} = 3.30$  ppm,  $\delta_{\text{C}} = 49.0$ ) 及び D

$_{20}$  ( $\delta_H = 4.80$  ppm,  $\delta_C$  ( $CH_3CN$  の) = 1.7 ppm) 又は TMS ( $\delta_H = 0.00$  ppm) を内部基準として使用した。カップリング定数を ヘルツ(Hz)で測定した。HRMS を、NaI 又は CsI をドーブした *m*-ニトロベンジルアルコール (NBA) マトリックスにおける FAB 法を使用して記録した。赤外スペクトルは Perkin-Elmer FTIR 1620 分光計で記録した。エナンチオマー過剰率を、Daicel Chemical Industries CHIRALPAK AD カラムを用いた HPLC を使用して測定した。旋光度を Optical Activity AA-1000 旋光計で測定した。融点は Thomas Hoover キャピラリー融点装置中で測定し、補正しなかった。カラムクロマトグラフィーを Merck Kieselgel 60 (230-400 メッシュ) 中で行った。分析用薄層クロマトグラフィーを、プレコートしたガラスバックプレート (glass-backed plates) (Merck Kieselgel  $F_{254}$ ) を使用して行い、モリブドリン酸セリウム又はニンヒドリンにより可視化した。ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン (THF) 及びトルエン ( $PhCH_3$ ) を、水素化カルシウムから蒸留したナトリウム-ベンゾフェノン ケチル、ジクロロメタン (DCM)、アセトニトリルから蒸留した。その他の溶媒及び試薬は必要により標準的手順により精製した。TLC をプレコートした Kieselgel 60  $F_{254}$  プレート (Merck) で行った。カラムクロマトグラフィーを、Kieselgel 60 (70-230 メッシュ及び 230-400 メッシュ) 及び MCI ゲル CHP-20P (Mitsubishi Chemical, Ind.) で行った。

#### 【0024】

特に述べない限り、すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma から購入した。

図2に示す 18:0 (ステアラミド (stearamide))

Aldrich から購入し、使用前に一度結晶化した。

脂肪アミド製造の一般的手順：脂肪酸 (1 当量) を、乾燥  $CH_2Cl_2$  (0.2 M) に溶解し、 $N_2$  雰囲気下で  $0^\circ C$  に冷却した。塩化オキサリル ( $CH_2Cl_2$  中の 2M, 3 当量) をゆっくりと添加した。溶液を  $25^\circ C$  に暖め、暗中で 3 時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去し、フラスコを  $0^\circ C$  に冷却した。過剰量の濃縮した  $NH_4OH$  (15 について：エタノールアミドを使用した) をゆっくりと添加し、粗生成物を溶離剤として EtOAc/ヘキサンを使用した  $SiO_2$  におけるクロマトグラフィーにより精製した。特

に述べない限り、脂肪酸は Sigma より購入した。

図2に示す14:1<sup>9</sup> (ミリストレアミド(Myristoleamide))

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィー(50%-100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離)により精製し、94%の所望の生成物を得た。融点 76-78 °C; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 5.29-5.22 (m, 2H), 2.11 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.95 (m, 4H), 1.52 (p, 2H, J = 7.3 Hz), 1.25 (m, 12H), 0.83 (m, 3H); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ 179.3, 130.82, 130.77, 36.6, 33.1, 30.8, 30.5, 30.3, 30.2, 28.1, 27.9, 26.9, 23.4, 14.4; IR (NaCl, フィルム) ν<sub>max</sub> 3324, 2923, 2852, 2523, 2466, 2355, 1630, 1526, 1469, 1435, 1410, 1095, 956, 755, 723 cm<sup>-1</sup>; HRFABMS m/z (M+H<sup>+</sup>) 226.2164 (要求値 m/z 226.2171)。

【0025】

図2に示す16:1<sup>9</sup> (パルミトレアミド(Palmitoleamide))

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィー(50 EtOAc/ヘキサン)により精製し、96%の所望の生成物を得た。融点 74-75 °C; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 5.30 - 5.22 (m, 2H), 2.11 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.94 (m, 4H), 1.53 (p, 2H, J = 7.1 Hz), 1.25 (m, 16H), 0.82 (t, 3H, J = 6.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ 179.3, 130.9, 130.8, 36.5, 33.0, 30.8 (2), 30.4, 30.34 (2), 30.27, 30.1, 28.2, 26.8, 23.7, 14.5; IR (NaCl, フィルム) ν<sub>max</sub> 3324, 3003, 2923, 2852, 2523, 2466, 2357, 1631, 1527, 1469, 1437, 1410, 1215, 758 cm<sup>-1</sup>; HRFABMS m/z (M+Cs<sup>+</sup>) 386.1448 (要求値 m/z 386.1460)。

図2に示す17:1<sup>9</sup>

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 68-69 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 5.64 (br, <sup>1</sup>H), 5.43 (br, <sup>1</sup>H), 5.38 - 5.26 (m, 2H), 2.19 (t, 2H, J = 7.6 Hz),

2.03 – 1.95 (m, 4H), 1.62 (m, 2H), 1.37 – 1.24 (m, 18 H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6, 130.2, 129.4, 35.9, 31.9, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 28.8, 27.2, 27.0, 25.4, 22.7, 14.1; IR (要求値)  $\nu_{\text{max}}$  3359, 3193, 2922, 2852, 1659, 1633, 1466, 1412, 1136  $\text{cm}^{-1}$ ; FAB HRMS (NBA–CsI)  $m/z$  400.1603 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{NO} + \text{Cs}^+$  要求値 400.1616). 8Z-ヘプタデセン酸を前記(JACS, 1996, 118, 5938–5945)の様に合成した。

# 【0026】

図2に示す18:1<sup>5</sup> (ペトロセリナミド(Petroselinamide))

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 73–74 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  6.15 (br, 1H), 5.61 (br, 1H), 5.34 – 5.27 (m, 2H), 2.17 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 2.01 (q, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 1.96 (q, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 1.60 (p, 2H,  $J = 7.8$  Hz), 1.35 (p, 2H,  $J = 7.8$  Hz), 1.28 – 1.21 (m, 18H), 0.83 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  175.9, 130.4, 129.0, 35.8, 31.9, 29.7, 29.62, 29.59, 29.5, 29.3, 29.2, 27.2, 26.8, 25.1, 22.6, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3366, 3203, 3000, 2917, 2848, 1647, 1465, 1415, 734  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–CsI)  $m/z$  282.2810 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 282.2797)。

図2に示される18:1<sup>7</sup>

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 70–71 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.26 (br, 1H), 5.67 (br, 1H), 5.34 – 5.24 (m, 2H), 2.16 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 2.00 – 1.92 (m, 4H), 1.58 (p, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.31 – 1.21 (m, 20H), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  176.1, 130.1, 129.3, 35.9, 31.8, 29.7, 29.6 (2), 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.8, 27.1, 27.0, 25.4, 22.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3392, 3179, 3013, 2920, 2848, 1647, 1468, 1416, 1312, 1115, 806, 719, 628  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  282.2801 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 282.2797)。

図2に示される 18:1<sup>8</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製するか、又は、既報(JACS, 1996, 118, 580-590)に正確にしたがい製造した。

【0027】

図2に示される 18:1<sup>9</sup> (オレアミド)

既報(JACS, 1996, 118, 580-590)に正確にしたがい製造した。

図2に示される 18:1<sup>10</sup> (エライダミド(Elaidamide))

既報(JACS, 1996, 118, 580-590)に正確にしたがい製造した。

図2に示される 18:1<sup>11</sup> (バクセナミド(Vaccenamide))

既報(JACS, 1996, 118, 580-590)に正確にしたがい製造した。

図2に示される 18:1<sup>12</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 77-78 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 6.11 (br, 1H), 5.62 (br, 1H), 5.34 - 5.26 (m, 2H), 2.16 (t, 2H, J = 7.5 Hz), 1.97 (q, 4H, J = 6.0 Hz), 1.58 (p, 2H, J = 7.3 Hz), 1.32 - 1.22 (m, 20H), 0.84 (t, 3H, J = 7.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 176.1, 129.84, 129.78, 35.9, 31.5, 29.7, 29.51, 29.46, 29.42, 29.38, 29.3, 29.23, 29.18, 27.1, 25.5, 22.5, 14.0; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 3356, 3188, 2917, 2848, 1727, 1661, 1633, 1469, 1410, 1135, 700, 628 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA-CsI) m/z 282.2810 (C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>NO + H<sup>+</sup> 要求値 282.2797)。

図2に示される 18:1<sup>13</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 86-87 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 6.03 (br, 1H), 5.57 (br, 1H), 5.34 - 5.27 (m, 2H), 2.17 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.98 (m, 4H), 1.58 (p, 2H, J = 7.2 Hz), 1.30 - 1.22 (m, 20H), 0.86 (t,

3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  176.0, 129.82, 129.78, 35.9, 31.9, 29.7, 29.55 (2), 29.48, 29.4, 29.3, 29.24, 29.19, 27.2, 26.8, 25.5, 22.3, 13.9; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3357, 3192, 3003, 2917, 2848, 1656, 1632, 1470, 1422, 1410, 1136, 721, 636  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  304.2608 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO} + \text{Na}^+$  要求値 304.2616).

【0028】

図2に示される18:1<sup>15</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 92-93 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  5.70 (br, 1H), 5.46 (br, 1H), 5.35 - 5.27 (m, 2H), 2.19 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.99 (h, 4H,  $J = 6.8$  Hz), 1.60 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.31 - 1.22 (m, 20H), 0.92 (t, 3H,  $J = 7.5$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  175.7, 131.5, 129.3, 35.9, 29.7, 29.60, 29.56, 29.5, 29.4, 29.31, 29.26, 29.2, 27.1, 25.5, 20.5, 14.4; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3356, 3189, 2918, 2848, 1659, 1632, 1470, 1420, 1410, 1137  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  282.2707 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 282.2797).

図2に示される19:1<sup>10</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 71-72 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.95 (br, 1H), 5.53 (br, 1H), 5.35 - 5.26 (m, 2H), 2.17 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 (m, 4H), 1.59 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.25 - 1.23 (m, 22H), 0.84 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  176.0, 129.9, 129.7, 35.9, 31.9, 29.7, 29.5, 29.34, 29.27, 29.2, 27.2, 25.5, 22.6, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3362, 3194, 2920, 2850, 1651, 1633, 1469, 1422  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  296.2961 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 296.2953). 10Z-ノナデセノイック酸 (nonadecenoic acid) を既報 (JACS, 1996, 118, 5938-5945) にしたがって製造した。



## 【0029】

図2に示される 20:1<sup>5</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィー（50%-100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離）により精製し、86%の所望の生成物を得た。融点 82 °C.; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 5.35-5.23 (m, 2H), 2.11 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 2.02-1.93 (m, 4H), 1.56 (p, 2H, J = 7.5 Hz), 1.28 - 1.15 (m, 24H), 0.81 (t, 3H, J = 6.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 175.5, 131.2, 128.4, 35.2, 31.9, 29.7, 29.7, 29.67, 29.63, 29.3, 27.3, 26.5, 25.4, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム) ν<sub>max</sub> 3371, 2917, 2849, 2535, 2361, 1632, 1511, 1471, 1423 cm<sup>-1</sup>; HRFABMS m/z (M+H<sup>+</sup>) 310.3100 (要求値 m/z 310.3110)

図2に示される 20:1<sup>8</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体。融点 71-72 °C.; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 5.70 (br, 1H), 5.44 (br, 1H), 5.36 - 5.27 (m, 2H), 2.19 (t, 2H, J = 7.5 Hz), 1.99 - 1.96 (m, 4H), 1.61 (p, 2H, J = 7.0 Hz), 1.30 - 1.23 (m, 24H), 0.85 (t, 3H, J = 7.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 175.7, 130.1, 129.6, 35.9, 31.9, 29.73, 29.66, 29.62, 29.54, 29.33, 29.31, 29.1, 29.0, 27.2, 27.1, 25.5, 22.7, 14.1; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 3389, 3200, 3003, 2917, 2848, 1645, 1467, 1418, 722 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA-NaI) m/z 310.3125 (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>NO + H<sup>+</sup> 要求値 310.3110).

図2に示される 20:1<sup>9</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。粗生成物をクロマトグラフィー（SiO<sub>2</sub>, 1 x 10 cm, 50 - 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離）に付し、9 (21.4 mg, 61%) を白色固体として得た。融点 72-73 °C.; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 5.56 (br, 1H), 5.41 (br, 1H)

, 5.36 – 5.27 (m, 2H), 2.19 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.99 – 1.96 (m, 4H), 1.61 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.28 – 1.23 (m, 28H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6, 130.0, 129.7, 35.9, 31.9, 29.75, 29.67, 29.64, 29.55, 29.34, 29.31, 29.22, 29.19, 29.10, 27.2, 27.1, 25.5, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3390, 3199, 2917, 2848, 1643, 1467, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  338.3416 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{43}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 338.3423)。酸を 22:1<sup>9</sup> に類似の態様で製造した。

## 【0030】

図2に示される 20:1<sup>11</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体をクロマトグラフィー（50%–66% EtOAc/ヘキサン、溶媒溶離）に付し、97%の所望の生成物を得た。融点 81–82 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.29 – 5.21 (m, 2H), 2.10 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.93 (m, 4H), 1.51 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.22 (m, 24H), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.3, 130.8 (2), 36.6, 33.1, 30.88, 30.86, 30.6, 30.5, 30.4, 28.2, 28.1, 26.9, 23.8, 14.5; IR (NaCl、フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3324, 2918, 2849, 2522, 2353, 1629, 1527, 1468, 1437, 1410, 955, 721  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}^+\text{Cs}^+$ ) 442.2068 (要求値  $m/z$  442.2086)。

図2に示される 20:1<sup>13</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体をクロマトグラフィー（33% EtOAc/ヘキサン）に付し、89%の所望の生成物を得た。融点 84–85 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.29 – 5.21 (m, 2H), 2.10 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.93 (m, 4H), 1.51 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.21 (m, 24H), 0.81 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.3, 130.9 (2), 36.6, 33.0, 30.9 (2), 30.8 (2), 30.7 (2), 30.5, 30.3 (2), 30.1, 28.2, 28.1, 26.9, 23.8, 14.5; IR (NaCl、フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3324, 2917, 2849, 2523, 2347, 1630, 1526, 1470, 1430, 1410, 953, 721

$\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 310.3099 (要求値  $m/z$  310.3110).

【0031】

図2に示される22:1<sup>9</sup>及び図18に示される経路

7-ブromoヘプタノールを保護 (TBDPSCl,  $\text{Et}_3\text{N}$ , DMAP)し、 $\text{PPh}_3$ で処理し、ホスホニウム塩 (284.9 mg, 0.42 mmol, 1 当量)を得た。これを無水THF (2.6 mL)中へAr下、 $-78^\circ\text{C}$ で溶解し、滴状のKHMS (トルエン中の0.5M、0.85 mL、0.43 mmol、1 当量)で処理した。オレンジ色の溶液を $-78^\circ\text{C}$ で40分間攪拌し、トリデカノール (100  $\mu\text{L}$ , 0.42 mmol, 1 当量)を添加した。反応物を $25^\circ\text{C}$ に暖め、1時間攪拌し、飽和水性 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (30 mL)を添加した。水性層をEtOAc (3 x 30 mL)で抽出した。有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 8 cm, 0 – 5% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離)に付し、アルケン (131.0 mg, 55%)を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.69 (dd, 4H,  $J = 8.0, 1.5$  Hz), 7.44 – 7.37 (m, 6H), 5.40 – 5.34 (m, 2H), 3.67 (t, 2H,  $J = 6.5$  Hz), 2.03 (q, 4H,  $J = 6.0$  Hz), 1.58 (p, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.35 – 1.28 (m, 30H), 1.07 (s, 9H), 0.90 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  135.6, 134.2, 129.90, 129.86, 129.5, 127.5, 64.0, 32.6, 31.9, 29.8, 29.70, 29.67, 29.6, 29.5, 29.4, 29.33, 29.26, 27.2, 26.9, 25.8, 22.7, 19.2, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2854, 1472, 1457, 1112, 823, 701, 608  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  695.3649 ( $\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{OSi} + \text{Cs}^+$  要求値 695.3624).

アルカン (128.2 mg, 0.23 mmol, 1 当量)の THF (2.2 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$ 下、TBAF (THF中の1M、0.46 mL、0.46 mmol、2 当量)で処理し、 $25^\circ\text{C}$ で2.5時間攪拌した。水 (30 mL)を添加し、水性層をEtOAc (3 x 30 mL)で抽出した。有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 5 cm, 5 – 33% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離)に付し、アルコール (51.2 mg, 69%)を白色フィルムとして得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.36 – 5.29 (m, 2H), 3.62 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz), 2.02 – 1.97 (m, 4H), 1.54 (p, 2H,  $J = 6.8$  Hz), 1.28 – 1.24 (m, 30H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  129.9, 129.8, 63.1, 32.8, 31.9, 29.73, 29.67,

29.64, 29.6, 29.5, 29.39, 29.35, 29.31, 29.2, 27.2, 25.7, 22.7, 14.1;  
 IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3328, 2923, 2852, 1457, 1055  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  
 $m/z$  325.3475 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O} + \text{H}^+$  要求値 325.3470).

【0032】

アルコール (48.5 mg, 0.15 mmol, 1 当量) の無水DMF (1 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、PDC (0.28 g, 0.74 mmol, 5 当量) で処理し、25  $^{\circ}\text{C}$  で 3.5 時間撹拌した。反応混合物をセライトを通してろ過し、ろ液を減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 1 x 8 cm, 10 – 20% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、酸 (36.2 mg, 72%) を透明の油として得た  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.37 – 5.28 (m, 2H), 2.33 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 2.01 – 1.97 (m, 4H), 1.61 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.29 – 1.24 (m, 28H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  179.9, 130.0, 129.7, 34.0, 31.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.14, 29.06, 29.03, 27.2, 27.1, 24.7, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2918, 2850, 1689, 1466, 1411, 1297, 918, 722, 687  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  361.3091 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_2 + \text{Na}^+$  要求値 361.3083).

酸 (34.9 mg, 0.103 mmol, 1 当量) の無水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.5 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、0  $^{\circ}\text{C}$  下で、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の 2M, 0.13 mL, 0.26 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を 25  $^{\circ}\text{C}$  に暖め、3時間撹拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を 0  $^{\circ}\text{C}$  に冷却し、過剰の濃縮 $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 1 x 10 cm, 50 – 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、22:1<sup>9</sup> (21.4 mg, 61%) を白色固体として得た。融点 72–73  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.56 (br, 1H), 5.41 (br, 1H), 5.36 – 5.27 (m, 2H), 2.19 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.99 – 1.96 (m, 4H), 1.61 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.28 – 1.23 (m, 28H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6, 130.0, 129.7, 35.9, 31.9, 29.75, 29.67, 29.64, 29.55, 29.34, 29.31, 29.22, 29.19, 29.10, 27.2, 27.1, 25.5, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3390, 3199, 2917, 2848, 1643, 1467, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  338.3416 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{43}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 33

8.3423).

【0033】

図2に示される22:1<sup>3</sup> (エルカミド(Erucamide))

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーにより精製した。白色固体をクロマトグラフィー (50% EtOAc/ヘキサン)に付し、96%の所望の生成物を得た。融点 83–84 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 5.29 – 5.21 (m, 2H), 2.09 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.93 (m, 4H), 1.51 (p, 2H, J = 7.3 Hz), 1.20 (m, 28H), 0.81 (t, 3H, J = 6.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 175.8, 129.88, 129.85, 36.0, 31.9, 29.7, 29.58, 29.53, 29.50, 29.46, 29.32, 29.29, 29.18, 27.2, 25.3, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\max}$  3375, 2920, 2847, 2544, 1633, 1511, 1468, 1417, 932, 721 cm<sup>-1</sup>; HR FABMS m/z (M+Cs<sup>+</sup>) 470.2413 (要求値 m/z 470.2399)。

図2に示される24:1<sup>9</sup>

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、白色固体をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 1 x 10 cm, 50 – 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離)に付し、13 (20.7 mg, 67%)を白色固体として得た。融点 74–75 °C; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 5.49 (br, 1H), 5.39 (br, 1H), 5.35 – 5.28 (m, 2H), 2.19 (t, 2H, J = 7.8 Hz), 2.00 – 1.96 (m, 4H), 1.61 (p, 2H, J = 7.0 Hz), 1.29 – 1.23 (m, 32H), 0.85 (t, 3H, J = 7.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 175.5, 130.0, 129.7, 35.9, 31.9, 29.8, 29.68, 29.65, 29.56, 29.3, 29.23, 29.19, 29.1, 27.21, 27.15, 25.5, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3389, 3184, 2917, 2848, 1044, 1467, 1416, 1119 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA–NaI) m/z 366.3740 (C<sub>24</sub>H<sub>47</sub>NO + H<sup>+</sup> 要求値 366.3736)。酸を22:1<sup>9</sup>に類似の態様で製造した。

【0034】

図2に示される24:1<sup>5</sup> (ネルボナミド(Nervonamide))

一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィーに

より精製した。白色固体をクロマトグラフィー (33%–66% EtOAc/ヘキサン、溶媒溶離) に付し、91%の所望の生成物を得た。融点 87–88 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.36–5.28 (m, 2H), 2.19 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.98 (m, 4H), 1.60 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.36–1.23 (m, 32H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.7, 129.9 (2), 35.94, 35.91, 31.9, 29.8, 29.63, 29.56, 29.54, 29.50, 29.46, 29.33, 29.30, 29.22, 27.18, 25.5, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3392, 2919, 2847, 2543, 2358, 1633, 1468, 1412, 720  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) 366.3727 (要求値  $m/z$  366.3736).

図2に示される 18:2<sup>11,12</sup> (リノールアミド(Linoleamide))

既報(JACS, 1996, 118, 580–590)にしたがい製造した。

図2に示される 18:2<sup>11,12-13,14</sup> (リノエライダミド(Linoelaidamide))

一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィー (50% EtOAc/ヘキサン) により精製し、88%の所望の生成物を得た。融点 83–84 °C.;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.35 – 5.24 (m, 4H), 2.59 (m, 2H), 2.10 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.90 (m, 4H), 1.51 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.33 – 1.13 (m, 14H), 0.81 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.3, 131.99, 131.92, 130.0, 129.9, 36.6, 36.5, 33.6 (2), 32.5, 30.7, 30.4, 30.3 (2), 30.1, 26.9, 23.6, 14.5; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3371, 2917, 2847, 2540, 2345, 1622, 1470, 1420, 964, 716  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Cs}^+$ ) 412.1598 (要求値  $m/z$  412.1616)

【0035】

図2に示される 20:2<sup>11,14</sup>

一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた白色固体をクロマトグラフィー (50%–100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) により精製し、92%の所望の生成物を得た。融点 47–49 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.31–5.20 (m, 4H), 2.67 (t, 2H,  $J = 6.2$  Hz), 2.12 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 (q, 4H,  $J = 6.8$  Hz),

1.52 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.32 – 1.17 (m, 18H), 0.82 (t, 3H,  $J = 6.9$ );  
 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.2, 130.9 (2), 129.1 (2), 36.5, 32.7, 30.8 (2), 30.7 (2), 30.5 (2), 30.41, 30.36, 28.2, 26.9, 26.6, 23.7, 14.5;  
 IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3324, 3009, 2919, 2849, 2513, 2466, 2400, 1733, 1634, 1528, 1469, 1410, 1250, 1048, 758  $\text{cm}^{-1}$ ; LRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) 308

図2に示される 18:3<sup>9.12.15</sup>: ( $\alpha$ -リノレンアミド( $\alpha$ -linolenamide))

一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた黄色のゲルをクロマトグラフィー (33%-100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) により精製し、99%の所望の生成物を得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.33–5.18 (m, 6H), 2.76 (t, 4H,  $J = 6.0$  Hz), 2.11 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 2.00 (m, 4H), 1.52 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.26 (m, 8H), 0.89 (t, 3H,  $J = 7.5$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.2, 132.7, 131.1, 129.2 (2), 128.8, 128.2, 36.5, 30.7, 30.4, 30.31, 30.26, 28.2, 26.9, 26.5, 26.4, 21.5, 14.7; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3326, 3009, 2924, 2851, 2526, 2356, 1629, 1527, 1469, 1436, 1410, 955, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Cs}^+$ ) 410.1452 (要求値  $m/z$  410.1460)。

図2に示される 20:3<sup>8.11.14</sup>

一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた黄色のゲルをクロマトグラフィー (50%-100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) により精製し、78%の所望の生成物を得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.32–5.21 (m, 6H), 2.73 (m, 4H), 2.11 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.98 (m, 4H), 1.51 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.34–1.20 (m, 12H), 0.81 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  179.3, 131.1, 131.0, 129.22, 129.16, 128.9, 128.8, 36.5, 32.7, 30.7, 30.5, 30.3, 30.1, 28.2 (2), 26.9, 26.6 (2), 23.7, 14.5; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3328, 3009, 2925, 2852, 2525, 2468, 2402, 1634, 1527, 1466, 1411, 1330, 1202, 959  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Cs}^+$ ) 438.1756 (要求値  $m/z$  438.1773)。

[0036]

図2に示される 20:3<sup>1.14.17</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、得られた黄色のゲルをクロマトグラフィー（50%–100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離）により精製し、84%の所望の生成物を得た。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz)  $\delta$  5.32–5.17 (m, 6H), 2.71 (t, 4H, J = 5.9 Hz), 2.10 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 2.01–1.92 (m, 4H), 1.51 (p, 2H, J = 7.3 Hz), 1.29 – 1.23 (m, 12H), 0.88 (t, 3H, J = 7.6 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)  $\delta$  179.3, 132.7, 131.1, 129.21, 129.17, 128.8, 128.2, 36.5, 30.8, 30.64, 30.62, 30.5, 30.4, 30.3, 28.2, 26.9, 26.5, 26.4, 21.5, 14.7; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\max}$  3324, 3010, 2963, 2919, 2849, 2525, 2351, 1627, 1529, 1469, 1439, 1410, 956, 721 cm<sup>-1</sup>; HRFABMS m/z (M+Cs<sup>+</sup>) 438.1765 (要求値 m/z 438.1773).

図2に示される 20:4<sup>5.8.11.14</sup>

Sigmaより購入した。

図2に示される 20:5<sup>5.8.11.14.17</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、透明のオイルゲルをクロマトグラフィーにより精製した。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  5.38 – 5.35 (m, 10H), 2.83 – 2.78 (m, 8H), 2.21 (t, 2H, J = 7.5 Hz), 2.11 (q, 2H, J = 6.5 Hz), 2.06 (p, 2H, J = 7.5 Hz), 1.71 (p, 2H, J = 7.5 Hz), 0.95 (t, 3H, J = 7.5 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  175.1, 132.1, 129.0, 128.9, 128.6, 128.3, 128.19, 128.16, 128.07, 127.8, 35.1, 26.5, 25.6, 25.5, 25.2, 20.6, 14.3; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3354, 3192, 3011, 2961, 1660, 1614, 1441, 1410, 1264 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA–NaI) m/z 302.2489 (C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>NO + H<sup>+</sup> 要求値 302.2484).

【0037】

図2に示される 22:6<sup>4.7.10.13.16.19</sup>

一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、透明のオイルゲルをクロマトグラフィー（50%–100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離）により精製し、55%の所望の生成物を得た。



$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.33 – 5.17 (m, 12H), 2.80 – 2.71 (m, 10H), 2.31 (m, 2H), 2.14 (t, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 1.98 (p, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 0.87 (t, 3H,  $J = 7.6$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  178.4, 132.8, 130.1, 129.4, 129.23, 129.19, 129.16, 129.09, 128.9, 128.2, 36.3, 26.54, 26.49, 26.42, 24.5, 21.5, 14.7; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3341, 3198, 3012, 2955, 1661, 1393, 1262, 923  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{Cs}^+$ ) 460.1640 (要求値  $m/z$  460.1616).

図3に示す、カルボキサミドについて変化させたオレイン酸アミド誘導体の製造についての一般的手順 (特に述べない限り)

1当量のオレイン酸を乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.2 M) に溶解し、 $\text{N}_2$  雰囲気下、 $0^\circ\text{C}$  に冷却した。塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の 2M、3 当量) をゆっくりと添加した。溶液を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、暗中で3時間攪拌した。次いで溶媒を減圧下で除去し、フラスコを  $0^\circ\text{C}$  に冷却した。過剰量の遊離アミン (塩酸塩として利用可能なアミンを、使用前に、50% NaOH 溶液から EtOAc へ抽出した) 又はアルコールをゆっくりと添加した。粗生成物を、溶離剤として EtOAc/ヘキサンを使用した  $\text{SiO}_2$  のクロマトグラフィーにより精製した。

オレイン酸

試薬は Aldrich から購入した。

【0038】

図3に示される MeNH

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入し、白色固体をクロマトグラフィー (50% EtOAc/ヘキサン) により精製し、95% の所望の生成物を得た。融点  $34\text{--}35^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.29 – 5.21 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 2.07 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.93 (m, 4H), 1.50 (p, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 1.23 – 1.21 (m, 20H), 0.81 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  176.7, 130.9, 130.8, 37.0, 33.1, 30.87, 30.85, 30.7, 30.5, 30.4, 30.34, 30.27, 28.2, 27.0, 26.3, 23.8, 14.5; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3301, 3005, 2921, 2853, 2418, 1651, 1557, 1463, 1

403, 1164, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 296.2940 (要求値  $m/z$  296.2953).

図3に示される  $\text{Me}_2\text{N}$

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、淡黄色の油をクロマトグラフィー (33% EtOAc/ヘキサン) により精製し、99%の所望の生成物を得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.32 – 5.24 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 2.86 (s, 3H), 2.29 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 (m, 4H), 1.53 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.28 – 1.24 (m, 20H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  175.4, 130.82, 130.77, 37.8, 35.7, 34.2, 33.1, 30.90, 30.87, 30.7, 30.5, 30.4, 30.3, 28.2, 26.3, 23.8, 14.6; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2923, 2853, 1652, 1463, 1394, 1267, 1141, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 310.3101 (要求値  $m/z$  310.3110).

図3に示される EtNH 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入し、白色固体をクロマトグラフィー (33% EtOAc/ヘキサン) により精製し、99%の所望の生成物を得た。融点 34–35  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.53 (br, 1H), 5.35 – 5.26 (m, 2H), 3.28 – 3.21 (m, 2H), 2.11 (t, 2H,  $J = 7.7$  Hz), 2.01 – 1.92 (m, 4H), 1.58 (p, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 1.30 – 1.23 (m, 20H), 1.09 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.0, 130.0, 129.7, 36.8, 34.2, 31.9, 29.73, 29.67, 29.5, 29.29 (2), 29.25 (2), 29.1, 27.2, 27.1, 25.8, 22.7, 14.9, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3304, 3084, 2918, 2850, 1641, 1551, 1466, 938, 721  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 310.3099 (要求値  $m/z$  310.3110).

【0039】

図3に示される  $\text{Et}_2\text{N}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より

り購入し、淡いオレンジ色の油をクロマトグラフィー(20%-50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離)により精製し、99%の所望の生成物を得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  5.32 – 5.25 (m, 2H), 3.31 (p, 4H,  $J = 7.2$  Hz), 2.28 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 (m, 4H), 1.55 (p, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.29–1.24 (m, 20H), 1.13 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 1.04 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  174.4, 130.81, 130.77, 43.4, 41.4, 33.9, 33.1, 30.91, 30.87, 30.7, 30.5, 30.4, 30.3, 28.3, 26.7, 23.8, 14.7, 14.6, 13.4; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2853, 1651, 1462, 1427, 1379, 1309, 1261, 1223, 1139, 1096, 944, 791, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) 38.3430 (要求値  $m/z$  338.3423).

#### 図3に示される PrNH 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。白色固体。融点 28–29  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.01 (br,  $^1\text{H}$ ), 5.29 – 5.21 (m, 2H), 3.12 (q, 2H,  $J = 6.8$  Hz), 2.08 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.95 – 1.90 (m, 4H), 1.54 (p, 2H,  $J = 7.4$  Hz), 1.43 (s, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.21 – 1.19 (m, 20H), 0.89 – 0.78 (m, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.1, 129.8, 129.6, 41.0, 36.6, 31.7, 29.60, 29.56, 29.4, 29.2 (4), 29.0, 27.04, 27.01, 25.7, 22.7, 22.5, 13.9, 11.2; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3298, 2924, 2854, 1648, 1552, 1464, 1378, 1253, 1153, 757  $\text{cm}^{-1}$ ; ESI ( $\text{M} + \text{H}^+$ ) 324.

#### 【0040】

#### 図3に示される i-PrNH 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順(前記参照)に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。白色固体。融点 25  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.46 – 5.45 (br,  $^1\text{H}$ ), 5.33 – 5.24 (m, 2H), 4.07 – 3.96 (m,  $^1\text{H}$ ), 2.07 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 – 1.93 (m, 4H), 1.56 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.24 – 1.15 (m, 20H), 1.08 (d, 6H,  $J = 6.6$  Hz), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,

, 100 MHz)  $\delta$  172.2, 129.9, 129.7, 41.0, 36.9, 31.8, 29.7, 29.6, 29.4, 29.23, 29.19, 29.1, 27.11, 27.08, 25.7, 22.7, 22.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3291, 2925, 2854, 1645, 1558, 1540, 1457, 1174, 1130, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  324.3259 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 324.3266).

図3に示される  $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{NH}$  誘導体

文献 (Synth. Comm. 1996, 26, 2341-2348) にしたがって製造した。

図3に示される  $i\text{-PrNMe}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい、 $i$ -プロピル- $N$ -メチル-アミンを使用して合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。

図3に示される シクロプロピルアミン 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい、シクロプロピルアミンを使用して合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。

#### 【0041】

図3に示される  $\text{Ph}(\text{CH}_2)_3\text{NH}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい、市販の  $\text{Ph}(\text{CH}_2)_3\text{NH}$  アミンを使用して合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。

図3に示される  $\text{BuNH}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。白色固体。融点 30-31  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.13 (b r,  $^1\text{H}$ ), 5.29 - 5.20 (m, 2H), 3.14 (q, 2H,  $J = 5.9$  Hz), 2.07 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.92 - 1.89 (m, 4H), 1.53 (p, 2H,  $J = 6.8$  Hz), 1.43 - 1.18 (m, 24H), 0.85 - 0.77 (m, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.1, 129.8, 129.5, 39.0, 36.6, 31.7, 31.6, 29.59, 29.55, 29.4, 29.2, 29.0, 27.03, 27.00, 25.7, 22.6, 19.9, 13.9, 13.5; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3301, 3084, 3001, 2954, 2918, 2849, 1639, 1559, 1466, 1231, 720  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$

z 338.3428 ( $C_{22}H_{43}NO + H^+$  要求値 338.3423).

図3に示されるピロール誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。淡黄色の油をクロマトグラフィー (33% EtOAc/ヘキサン) により精製し、所望の生成物を定量的収率で得た。  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  5.29 – 5.21 (m, 2H), 3.39 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 3.31 (t, 2H,  $J = 6.9$  Hz), 2.22 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.94 (m, 4H), 1.88 (p, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 1.78 (p, 2H,  $J = 6.9$  Hz), 1.52 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.25 – 1.20 (m, 20H), 0.81 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 100 MHz)  $\delta$  173.9, 130.83, 130.79, 47.9, 46.8, 35.5, 33.1, 30.94, 30.90, 30.7, 30.54, 30.46, 30.3, 28.2, 27.0, 26.1, 25.4, 23.8, 14.7; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{max}$  2924, 2853, 1651, 1428, 1342, 1226, 1194, 723  $cm^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+Cs^+$ ) 468.2225 (要求値  $m/z$  468.2242).

【0042】

図3に示すPhNH 誘導体

文献 (Synth. Comm. 1995, 25, 959–968) にしたがって製造した。

図3に示すNHOH 誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938–5945) にしたがって製造した。

図3に示されるMeONMe 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。淡黄色の油をクロマトグラフィー (33% EtOAc/ヘキサン) により精製し、所望の生成物を定量的収率で得た。  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  5.34 – 5.26 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.39 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 1.99 (m, 4H), 1.56 (p, 2H,  $J = 6.8$  Hz), 1.30 – 1.26 (m, 20H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.1$  Hz);  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 100 MHz)  $\delta$  176.2, 130.9, 130.8, 61.8, 33.1, 32.7, 30.92, 30.88, 30.77, 30.54, 30.49, 30.45, 30.3, 28.2, 25.8, 23.8, 14.6; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{max}$  2923, 2853, 1673, 1463, 1413, 1383, 117

7, 1116, 998, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 326.3072 (要求値  $m/z$  326.3059).

図3に示される  $\text{NH}_2\text{NH}$  誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938-5945) にしたがって製造した。

図3に示される MeO (オレイン酸メチル) 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。粗混合物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $5 \times 15 \text{ cm}$ , 1% EtOAc/ヘキサン) により精製し、透明な油を定量的収率で得た。 $^1\text{H}$  NMR スペクトルは、Sadtler Handbook of NMR data のスペクトルと一致した。追加のデータ:  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  176.0, 130.9, 130.8, 52.0, 34.8, 33.1, 30.9, 30.8, 30.6, 30.5, 30.4, 30.3, 30.20, 30.17, 28.14, 28.11, 26.1, 23.8, 14.5; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2924, 2854, 1743, 1653, 1558, 1540, 1506, 1457, 1260, 1093, 1018, 801  $\text{cm}^{-1}$ .

【0043】

図3に示される EtO (オレイン酸エチル) 誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。透明な油。 $^1\text{H}$  NMR スペクトルは、Sadtler Handbook of NMR data のスペクトルと一致した。追加のデータ:  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  173.8, 129.9, 129.7, 60.1, 34.3, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 29.12, 29.08, 29.05, 27.2, 27.1, 24.9, 22.6, 14.2, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2854, 1739, 1465, 1373, 1244, 1180, 1036, 723  $\text{cm}^{-1}$ .

図3に示される  $\text{Me}_2\text{CHCH}_2\text{O}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros 又は Sigma より購入した。淡黄色の油。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.35 – 5.27 (m, 2H), 3.82 (d, 2H,  $J = 3.4 \text{ Hz}$ ), 2.27 (t, 2H,  $J = 7.5 \text{ Hz}$ ), 1.98 – 1.95 (m, 4H), 1.89 (七重項, 1H,  $J = 6.7 \text{ Hz}$ ), 1.59 (五重項, 2H,  $J = 6.9 \text{ Hz}$ ), 1.27 – 1

.23 (m, 20H), 0.90 (d, 6H,  $J = 3.4$  Hz), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.6$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.97, 129.92, 129.72, 70.36, 34.36, 31.89, 29.75, 29.67, 29.51, 29.31 (2), 29.15, 29.13, 29.09, 27.70, 27.19, 27.14, 25.02, 22.67, 19.07 (2), 14.10; IR ( $\text{NaCl}$ , フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925.2, 2853.9, 1739.7, 1466.2, 1378.6, 1172.6, 1012.6; FABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 339.

図3に示されるH(オレイルアルデヒド)

文献(JOC 1978, 43, 2480-2482)にしたがい製造した。

図3に示される $\text{CF}_3$

既報(JACS, 1996, 118, 5938-5945)にしたがい製造した。

図3に示される $\text{ClCH}_2$

既報(JACS, 1996, 118, 5938-5945)にしたがい製造した。

【0044】

図3に示される $\text{N}_2\text{CH}$

既報(JACS, 1996, 118, 5938-5945)にしたがい製造した。

図3に示されるオレイルアルコール

文献(JOC 1978, 43, 2480-2482)にしたがい製造した。

酢酸オレイル

Sigmaより購入した。

オレイルアミン

Pfaltz and Bauerより購入した。

図3に示されるオレイルアルデヒドジメチルアセタール

文献(J Med Chem, 1989, 32, 1319-1322)にしたがい製造した。

図3に示されるCoA-SCO 誘導体

Sigmaより購入した。

図4に示される $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$  誘導体

既報(JACS, 1996, 118, 580-590)にしたがい製造した。

図4に示される $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$  誘導体

Pfaltz and Bauerより購入した。

図4に示される $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。白色固体。融点 55–56 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.87 (t,  $^1\text{H}$ ,  $J = 5.8$  Hz), 5.28 – 5.19 (m, 2H), 4.25 (br,  $^1\text{H}$ ), 3.52 (s, 2H), 3.27 (q, 2H,  $J = 6.2$  Hz), 2.09 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.91 – 1.88 (m, 4H), 1.58 (p, 4H,  $J = 6.0$  Hz), 1.51 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.20 – 1.17 (m, 20H), 0.78 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  174.6, 129.8, 129.4, 58.9, 36.4, 36.0, 31.9, 31.7, 29.5, 29.3, 29.1, 29.0, 27.00, 26.96, 25.7, 22.5, 13.9; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3290, 2917, 2848, 1634, 1550, 1462, 1412, 1216, 1052, 762  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  340.3226 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{NO}_2 + \text{H}^+$  要求値 340.3216)。

【0045】

図4に示される  $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OAc})\text{CH}_2\text{O}$  誘導体

Sigmaより購入。

図4に示される  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$  誘導体

Sigmaより購入。

図4に示される  $(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NH}$  誘導体

カルボキサミドについて変化させた誘導体についての一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。オレンジ色の油。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.68 (br, 1H), 7.50 (br, 1H), 5.38 – 5.29 (m, 8H), 3.78 (t, 2H,  $J = 5.0$  Hz), 3.73 (t, 2H,  $J = 5.3$  Hz), 3.50 (t, 2H,  $J = 5.0$  Hz), 3.45 (t, 2H,  $J = 5.0$  Hz), 2.81 – 2.77 (m, 6H), 2.36 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 2.09 (q, 2H,  $J = 6.0$  Hz), 2.02 (q, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 1.67 (p, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.34 – 1.22 (m, 6H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  175.3, 130.5, 129.2, 128.7, 128.5, 128.1 (2), 127.8, 127.4, 61.3, 60.7, 52.2, 50.5, 32.8, 31.4, 29.3, 27.2, 26.6, 25.6 (3), 25.0, 22.5, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3375, 3011, 2956, 2926, 2857, 1727, 1621, 1455, 1270, 1072  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–CsI)  $m/z$  524.2152 ( $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{NO}_3 + \text{Cs}^+$  要求値 524.2141)。



図5に示される  $\text{CH}_2\text{OCH}_3$  誘導体及び図19に示されるスキーム (左側)

18-TBDPS-酸 (JACS, 1996, 118, 580-590にしたがい製造) (390.1 mg, 0.58 mmol, 1 当量) の THF (2 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、25 °C で、TBAF (THF 中の 1M、1.2 mL, 1.2 mmol, 2 当量) により 2 時間処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 8 cm, 20 - 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、18-OH-酸 (149.1 mg, 86%) を白色固体として得た。25 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.47 (br, 1H), 5.35 - 5.26 (m, 2H), 3.60 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 2.29 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.98 - 1.95 (m, 4H), 1.60 - 1.49 (m, 4H), 1.27 (s, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  179.2, 129.9, 129.8, 62.8, 34.1, 32.5, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0 (2), 27.11, 27.07, 25.7, 24.7; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3355, 2926, 2853, 1710, 1462, 1409, 1246, 1054, 722  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  321.2415 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_3 + \text{Na}^+$  要求値 321.2406)。

【0046】

18-OH-酸 (67.7 mg, 0.23 mmol, 1 当量) の無水 THF (2.2 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、0 °C で、NaH (60%, 28.1 mg, 0.70 mmol, 3 当量) により 15 分間処理した。MeI (72  $\mu\text{L}$ , 1.16 mmol, 5 当量) を添加し、反応物を 25 °C に暖め、5 時間攪拌した。MeI (140  $\mu\text{L}$ , 2.25 mmol, 10 当量) の第2の部分添加し、反応物を更に 14 時間攪拌した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 8 cm, 20 - 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、18-メトキシ-酸 (41.0 mg, 58%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.35 - 5.27 (m, 2H), 3.35 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 3.31 (s, 3H), 2.31 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.99 - 1.96 (m, 4H), 1.64 - 1.50 (m, 4H), 1.28 - 1.27 (m, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  179.7, 129.9, 129.7, 73.0, 58.4, 34.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 29.1, 29.0, 27.2, 27.1, 26.1, 24.7; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2854, 1710, 1458, 1119  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  335.2568 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_3 + \text{Na}^+$  要求値 335.2562)。

18-メトキシ-酸 (37.7 mg, 0.12 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.6 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、 $0^\circ\text{C}$  で、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 2M, 0.18 mL, 0.36 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、3 時間攪拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を  $0^\circ\text{C}$  に冷却し、過剰量の濃縮  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2 \times 5 \text{ cm}$ , 50 – 100% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\text{CH}_2\text{OCH}_3$  (34.6 mg, 92%) を白色固体として得た。融点  $59\text{--}60^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.71 (br, 1H), 5.52 (br, 1H), 5.35 – 5.27 (m, 2H), 3.33 (t, 2H,  $J = 6.7 \text{ Hz}$ ), 3.29 (s, 3H), 2.18 (t, 2H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ ), 1.98 – 1.96 (m, 4H), 1.61 – 1.49 (m, 4H), 1.27 – 1.26 (m, 18H);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.8, 129.9, 129.8, 72.9, 58.5, 35.9, 29.7, 29.64, 29.60, 29.4, 29.20, 29.18, 29.07, 27.14, 27.12, 26.1, 25.5; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3356, 3191, 2922, 2851, 2358, 1660, 1633, 1469, 1410, 1120  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  334.2730 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N} + \text{Na}^+$  要求値 334.2722)。

【0047】

図5に示される  $\text{CH}_2\text{OH}$  誘導体はAldrichから市販されている。

図5に示される  $\text{CONH}_2$  誘導体及び図19に示されるスキーム (左側)

$\text{CO}_2\text{H}$  (73.8 mg, 0.24 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.2 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、 $0^\circ\text{C}$  で、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中 2M, 0.36 mL, 0.72 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、暗中で 3 時間攪拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を  $0^\circ\text{C}$  に冷却し、過剰量の濃縮  $\text{NH}_4\text{OH}$  (3 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) 及び  $\text{CHCl}_3$  (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2 \times 15 \text{ cm}$ , 0 – 10% MeOH/EtOAc, 勾配溶離) に付し、 $\text{CONH}_2$  (27.8 mg, 38%) を白色固体として得た。融点  $128\text{--}129^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.47 (br, 4H), 5.35 – 5.28 (m, 2H), 2.20 (t, 4H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ ), 1.98 (q, 4H,  $J = 5.6 \text{ Hz}$ ), 1.61 (p, 4H,  $J = 7.3 \text{ Hz}$ ), 1.29 (s, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6 (2), 129.9 (2), 35.9 (2), 29.6 (2), 29

.2 (4), 29.0 (2), 27.1 (2), 25.5 (2); IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3385, 3186, 2921, 2848, 1647, 1419  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  311.2691 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}^+$  要求値 311.2699).

図5に示される  $\text{CO}_2\text{H}$  誘導体

18-ヒドロキシ-アミド (JACS, 1996, 118, 580-590にしがいい製造) (101.2 mg, 0.34 mmol, 1 eq) の無水 DMF (3.4 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、25  $^{\circ}\text{C}$  下で、PDC (644.0 mg, 1.71 mmol, 5 当量) で5 時間処理した。水 (30 mL) を添加し、混合物を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2.5  $\times$  15 cm, 5 - 10% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\text{CO}_2\text{H}$  (85.0 mg, 80%) を白色固体として得た。融点 74-76  $^{\circ}\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.71 (br, 1H), 5.74 (br, 1H), 5.34 - 5.27 (m, 2H), 2.29 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 2.19 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.97 (m, 4H), 1.59 (m, 4H), 1.27 (s, 16H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  178.6, 177.5, 129.9, 129.8, 35.9, 34.2, 29.6, 29.5, 29.2, 29.10, 29.08, 29.02 (2), 28.9, 27.1, 27.0, 25.5, 24.8; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3389, 3191, 3008, 2917, 2848, 1704, 1645, 1466, 1417  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  444.1524 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO}_3 + \text{Cs}^+$  要求値 444.1515).

【0048】

図6に示すOH 誘導体

オレイックグリシンエチルエステル (Oleic glycine ethyl ester) (OEt) (725.5 mg, 1.97 mmol, 1 当量) を 6 mL の THF/MeOH/H<sub>2</sub>O (3:1:1) に溶解した。溶液を LiOH  $\cdot$  H<sub>2</sub>O (236.6 mg, 5.63 mmol, 2.9 当量) で処理し、25  $^{\circ}\text{C}$  で15 分間攪拌した。溶液を 1N HCl (30 mL) で希釈し、EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥し、ろ過し、減圧下で濃縮し、OH (611.2 mg, 91%) を白色固体として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.04 (br, 1H), 6.26 (t, 1H,  $J = 4.8$  Hz), 5.36 - 5.27 (m, 2H), 4.04 (d, 2H,  $J = 5.2$  Hz), 2.24 (t, 3H,  $J = 7.7$  Hz), 1.97 (m, 4H), 1.61 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.27 - 1.24 (m, 20H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  174.6, 172.7, 130.0, 129.7, 41.5, 36.3, 31.9, 29.74, 29.68, 29.5, 29.3 (2), 29.

19, 29.15, 29.1, 27.20, 27.15, 25.5, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3429, 3304, 2918, 2849, 1699, 1645, 1552, 1469, 1410, 1239, 718, 677  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 340.2861 (要求値  $m/z$  340.2852); 融点 90–91  $^{\circ}\text{C}$ .  
図6に示す $\text{NH}_2$  誘導体

オレイックグリシン (OH) (325.6 mg, .96 mmol, 1 当量)、乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (16 mL) 及び濃縮水酸化アンモニウム (225  $\mu\text{L}$ ) を  $\text{N}_2$  雰囲気下で組合せ、0  $^{\circ}\text{C}$  に冷却した。EDCI (573.1 mg, 1.93 mmol, 1 当量) 及び DMAP (24.4 mg, 0.20 mmol, 0.2 当量) を添加し、反応物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 2.5 時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 3 x 18 cm, 0–10% メタノール/EtOAc、勾配溶離) により精製し、231.1 mg (71%) の  $\text{NH}_2$  を白色固体として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.03 (br, 1H), 5.28 – 5.20 (m, 2H), 3.72 (d, 2H,  $J = 1.4$  Hz), 2.16 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.92 (m, 4H), 1.52 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.23 – 1.19 (m, 20H), 0.80 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.8, 171.0, 130.0, 129.7, 42.8, 36.4, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 27.21, 27.16, 25.6, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3385, 3307, 3195, 2918, 2849, 1661, 1643, 1549, 1468, 1415  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $M+H^+$ ) 339.3020 (要求値  $m/z$  339.3012); 融点 124–125  $^{\circ}\text{C}$ .

#### 【0049】

図6に示すOEt 誘導体

オレイン酸 (100  $\mu\text{L}$ , .32 mmol, 1 当量)、グリシンエチルエステル塩酸塩 (45.9 mg, .33 mmol, 1 当量)、乾燥トリエチルアミン (66  $\mu\text{L}$ , .47 mmol, 1.5 当量) 及び乾燥塩化メチレン (5 mL) を  $\text{N}_2$  雰囲気下で組合せ、0  $^{\circ}\text{C}$  に冷却した。EDCI (107.0 mg, 0.36 mmol, 1.1 当量) 及び DMAP (8.1 mg, 0.07 mmol, 0.2 当量) を添加し、反応物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 4 時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 15 cm, 20% – 33% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、OEt を白色固体 (109.5 mg, 94%) として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.95 (br, 1H), 5.36 – 5.27 (m, 2H), 4.19 (四重項, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.00 (d, 2H,  $J = 5.1$  Hz), 2.21 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.99 (m, 4H)

, 1.62 (p, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.28 – 1.24 (m, 23H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  173.2, 170.1, 130.0, 129.7, 61.5, 41.3, 36.4, 31.9, 29.73, 29.67, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 27.2, 27.1, 25.5, 22.7, 14.1; IR (NaCl, フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3311, 2918, 2849, 1739, 1647, 1552, 1465, 1413, 1375, 1213, 1032, 700  $\text{cm}^{-1}$ ; HRFABMS  $m/z$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) 368.3175 (要求値  $m/z$  368.3165); 融点 32–33  $^{\circ}\text{C}$ .

OH/  $R_1$  = 図6に示すMe 誘導体

Sigmaより購入した。

OEt/  $R_1$  = 図6に示すMe 誘導体(共に異性体)

オレオイルサルコシン(OH) (200.7 mg, 0.57 mmol, 1 当量) の無水THF (6 mL) 溶液に、DCC (158.9 mg, 0.77 mmol, 1.4 当量) 及び無水 EtOH (50  $\mu\text{L}$ , 0.85 mmol, 1.5 当量) を添加した。反応混合物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 22 時間攪拌した。白色の沈殿物をろ別し、水 (30 mL) を溶離液に添加した。水性層を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 3  $\times$  15 cm, 10 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、透明な油状の OEt (150.8 mg, 70%) を異性体混合物として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.30 – 5.27 (m, 2H), 4.19 – 4.09 (m, 2H), 4.05 + 3.97 (s, 2H), 3.01 + 2.91 (s, 3H), [2.31 (t,  $J = 7.5$  Hz) + 2.16 (t,  $J = 7.4$  Hz)][2H], 1.96 – 1.94 (m, 4H), 1.59 (p, 2H,  $J = 6.6$  Hz), 1.26 – 1.20 (m, 23 H), 0.82 (t, 3H,  $J = 6.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) メジャー異性体 (マイナー異性体)  $\delta$  173.7 (173.3), 169.3 (169.0), 129.8, 129.7, (127.9, 127.8), (61.4), 60.9, (51.6), 49.3, 36.4, (34.7), 33.0, (32.8, 32.5), 31.8, (31.4), 29.64, 29.60, 29.4, 29.23, 29.19, 29.0, 27.1, (24.9), 24.8, 22.6, 14.03, 13.99; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2924, 2853, 1750, 1655, 1465, 1400, 1373, 1197, 1113, 1035  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  404.3128 ( $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{O}_3\text{N} + \text{Na}^+$  要求値 404.3141).

【0050】

図7に示す2(9-オクタデシナミド (octadecynamide) ) 誘導体

6に類似の態様で、一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべ

ての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。融点 91–92 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.14 (br, 1H), 5.62 (br, 1H), 2.15 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 2.07 (t, 4H,  $J = 7.0$  Hz), 1.57 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.41 (p, 4H,  $J = 7.4$  Hz), 1.35 – 1.21 (m, 16H), 0.82 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  176.0, 80.2, 80.0, 35.9, 31.8, 29.1, 29.04 (3), 28.98, 28.8 (2), 28.6, 25.4, 22.6, 18.7, 18.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3409, 2928, 2850, 1647, 1471, 1419, 712  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–CsI)  $m/z$  412.1636 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{NO} + \text{Cs}^+$  要求値 412.1616).

図7に示す3誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 580–590) に従い製造した。

図7に示す4誘導体

文献 (JACS, 1959, 81, 4256) にしたがって製造した。

図7に示す5 誘導体

6に類似の態様で、一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。融点 47–48 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.13 – 7.07 (m, 4H), 5.53 (br, 1H), 5.41 (br, 1H), 2.57 (td, 4H,  $J = 7.9, 1.5$  Hz), 2.20 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.62 (p, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.55 (p, 4H,  $J = 7.8$  Hz), 1.34 – 1.26 (m, 16H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6, 140.5, 140.4, 129.1, 129.0, 125.70, 125.66, 35.9, 32.7, 32.6, 31.9, 31.3, 31.2, 29.8, 29.6, 29.5, 29.3 (2), 29.2, 25.5, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3392, 3194, 2924, 2853, 1647, 1464, 1415, 746  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  354.2776 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{NO}$  要求値 354.2773).

【0051】

図7に示す6 誘導体及び図20に示すスキーム

1-ブロモペンタン (1.0 mL, 8.1 mmol, 1 当量) 及び  $\text{Ph}_3\text{P}$  (2.32 g, 8.8 mmol, 1.1 当量) の無水  $\text{CH}_3\text{CN}$  (6 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、20 時間還流した。反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $3 \times 20$  cm, 10% EtOAc/ヘキサン – 50% iPrOH/EtOAc、勾配溶離) に付し、ホスホニウム塩 (3.27 g,

98%) を白色のフォームとして得た。  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.84 – 7.73 (m, 9H), 7.69 – 7.65 (m, 6H), 3.78 – 3.71 (m, 2H), 1.58 – 1.57 (m, 4H), 1.25 (s, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 0.78 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  134.9 (3, d,  $J = 2$  Hz), 133.6 (6, d,  $J = 10$  Hz), 130.4 (6, d,  $J = 12$  Hz), 118.3 (3, d,  $J = 86$  Hz), 32.3 (d,  $J = 15$  Hz), 22.9, 22.3, 22.2 (d,  $J = 3$  Hz), 13.6; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3405, 2921, 2864, 1438, 1112, 996, 749, 723, 690  $\text{cm}^{-1}$ ; ESI ( $\text{M} - \text{Br}^+$ ) 333. ホスホニウム塩 (3.2 g, 7.74 mmol, 1.1 当量) の無水 THF (60 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、 $-78^\circ\text{C}$  で、 $n\text{-BuLi}$  (2.0M, 7.0 mL, 14.0 mmol, 2.0 当量) で処理した。反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、10 分間攪拌した。反応物を  $-78^\circ\text{C}$  に再冷却し、2-シアノベンズアルデヒド (0.9119 g, 6.95 mmol, 1 当量) の無水 THF (15 mL) 溶液で処理した。次いで反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、1 時間攪拌し、飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 mL) 水溶液を添加した。水性層を EtOAc ( $3 \times 100$  mL) で抽出し、有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $6 \times 20$  cm, 0–5% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、CN-アルケン (0.9796 g, 76%) を透明な油 (E/Z 異性体の混合物) として得た。  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.64 – 7.22 (m, 4H), [6.72 (d,  $J = 15.7$  Hz) + 6.59 (d,  $J = 11.6$  Hz)][1H], [6.41 (dt,  $J = 15.7, 7.0$  Hz) + 5.90 (dt,  $J = 11.6, 7.5$  Hz)][1H], [2.27 (qd,  $J = 7.6, 1.4$  Hz) + 2.21 (qd,  $J = 7.3, 1.7$  Hz)][2H], 1.50 – 1.20 (m, 4H), [0.91 (t,  $J = 7.2$  Hz) + 0.84 (t,  $J = 7.2$  Hz)][3H];  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  141.3, 141.2, 137.4, 136.8, 132.8, 132.7, 132.6, 132.2, 129.4, 126.8, 125.8, 125.3, 125.0, 118.1, 118.0, 112.2, 110.4, 32.8, 31.6, 31.1, 28.4, 22.2, 13.9, 13.8; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2957, 2928, 2858, 2224, 1647, 1596, 1478, 1466, 1448, 966, 759  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA- $\text{NaI}$ )  $m/z$  186.1285 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N} + \text{H}^+$  要求値 186.1283)。

[0052]

CN-アルケン (0.9394 g, 5.1 mmol, 1 当量) の無水トルエン (10 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、 $0^\circ\text{C}$  下、DIBAL (1M, 5.6 mL, 5.6 mmol, 1.1 当量) で処理した。反応混合物を 5 分間攪拌し、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (60 mL) の水性飽和溶液を添加した。混合物を  $25^\circ\text{C}$

℃ で 15 分間攪拌し、水性層を EtOAc (3 × 60 mL) で抽出した。有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 4 × 20 cm, 0-4% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、CHO-アルケン (0.86 g, 91%) を透明な油 (E/Z 異性体の混合物) として得た。 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ [10.26 + 10.22] [s, 1H], [7.87 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz) + 7.77 (dt, J = 7.6, 0.9 Hz)] [1H], 7.54 - 7.23 (m, 3H), [7.15 (dt, J = 15.6, 1.5 Hz) + 6.77 (d, J = 11.5 Hz)] [1H], [6.13 (dt, J = 15.6, 6.9 Hz) + 5.90 (dt, J = 11.5, 7.5 Hz)] [1H], [2.26 (qd, J = 7.5, 1.5 Hz) + 2.03 (qd, J = 7.3, 1.6 Hz)] [2H], 1.50 - 1.18 (m, 4H), [0.91 (t, J = 7.3 Hz) + 0.79 (t, J = 7.3 Hz)] [3H]; <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 192.4, 141.0, 137.5, 136.2, 133.6, 133.5, 132.5, 130.5, 130.4, 128.4, 127.4, 127.1, 126.9, 125.6, 125.1, 33.0, 31.4, 31.2, 28.1, 22.21, 22.16, 13.9, 13.8; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 2957, 2928, 2871, 1695, 1597, 1566, 1480, 1466, 1451, 1389, 1289, 1196, 968, 762 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA-NaI) m/z 189.1280 (C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O + H<sup>+</sup> 要求値 189.1279).

5-プロモ-ペンタノール (0.9889 g, 5.9 mmol, 1 当量) の無水 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) 溶液を、N<sub>2</sub> 下、25 ℃ 下、無水 Et<sub>3</sub>N (1.0 mL, 7.2 mmol, 1.2 当量)、TBDPSCl (1.7 mL, 6.5 mmol, 1.1 当量) 及び DMAP (0.23 g, 1.9 mmol, 0.3 当量) で処理した。反応混合物を 2 時間攪拌し、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水性液 (100 mL) を添加した。水性層を EtOAc (3 × 100 mL) で抽出し、有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 5 × 20 cm, 0-20% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、TBDPSOH (2.35 g, 98%) を透明な油として得た。 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7.66 - 7.60 (m, 4H), 7.44 - 7.33 (m, 6H), 3.64 (t, 2H, J = 6.1 Hz), 3.37 (t, 2H, J = 6.9 Hz), 1.82 (p, 2H, J = 7.3 Hz), 1.59 - 1.45 (m, 4H), 1.03 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 135.6, 129.6, 127.6, 127.5, 63.5, 33.9, 32.5, 31.6, 26.8, 24.5, 19.2; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 3069, 2930, 2856, 2359, 1470, 1427, 1389, 1106, 822, 738, 700 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA-CsI) m/z 537.0235 (C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>OSiBr + Cs<sup>+</sup> 要求値 537.0225).



## 【0053】

TBDPSOH(2.35 g, 5.8 mmol, 1 当量) 及び Ph<sub>3</sub>P (1.67 g, 6.4 mmol, 1.1 当量) の無水 CH<sub>3</sub>CN (6 mL) 溶液を、N<sub>2</sub> 下、22 時間還流した。反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 5 x 20 cm, 20% EtOAc/ヘキサン - 50% iPrOH/EtOAc, 勾配溶離) に付し、TBDPSホスホニウム塩 (2.82 g, 73%) を白色のフォームとして得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7.84 - 7.72 (m, 9H), 7.67 - 7.62 (m, 6H), 7.58 - 7.55 (m, 4H), 7.38 - 7.29 (m, 6H), 3.84 (m, 2H), 3.57 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 1.75 - 1.51 (m, 6H), 0.95 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 135.4 (4), 134.9 (3, d, J = 3 Hz), 133.8 (2), 133.7 (6, d, J = 10 Hz), 130.4 (6, d, J = 13 Hz), 129.5 (2), 127.6 (4), 118.3 (3, d, J = 85 Hz), 63.4, 31.9, 26.8 (3), 25.3, 23.0, 22.4 (d, J = 3 Hz), 19.1; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  3394, 2928, 2856, 2359, 1438, 1111, 996, 743, 703, 689 cm<sup>-1</sup>; ESI (M - Br<sup>+</sup>) 587.

TBDPSホスホニウム塩 (2.5783 g, 3.9 mmol, 1.1 当量) の無水 THF (25 mL) 溶液を、N<sub>2</sub> 下、-78 °C 下、n-BuLi (2.0M, 3.5 mL, 7.0 mmol, 2 当量) で処理した。反応混合物を 25 °C に暖め、10 分間攪拌した。反応物を -78 °C に再冷却し、CHO-アルケン (0.66 g, 3.5 mmol, 1 当量) の無水 THF (10 mL) 溶液で処理した。次いで反応混合物を 25 °C に暖め、1時間攪拌し、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水性溶液 (60 mL) を添加した。水性層を EtOAc (3 x 60 mL) で抽出し、有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 3 x 20 cm, 0-20% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) し、アルケン-アルケン (0.57 g, 33%) を透明な油 (E/Z 異性体の混合物) として得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7.67 - 7.57 (m, 4H), 7.45 - 7.33 (m, 7H), 7.24 - 7.09 (m, 3H), 6.63 - 6.35 (m, 2H), 6.14 - 5.61 (m, 2H), 3.70 - 3.58 (m, 2H), 2.21 - 2.06 (m, 4H), 1.64 - 1.23 (m, 8H), 1.04 - 1.01 (m, 9H), 0.94 - 0.80 (m, 3H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 136.6, 136.5, 135.5, 134.1, 133.2, 133.0, 132.8, 129.5, 129.1, 129.0, 128.0, 127.8, 127.6, 126.8, 126.2, 125.3, 63.7, 33.0, 32.2, 32.1, 32.0, 28.19, 28.15, 26.8, 26.0, 25.9, 25.7, 22.3, 19.2, 13.9; IR (フィルム)  $\nu_{\max}$  2929, 2857, 1473, 1428, 1111, 823, 740, 70

1  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  629.2226 ( $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{OSi} + \text{Cs}^+$  要求値 629.2216). アルケン-アルケン (0.4311 g, 0.87 mmol, 1 当量) を 10% Pd/C (0.33 g) と Ar 下で組み合わせた。無水 EtOH (8 mL) を添加し、雰囲気は  $\text{H}_2$  にパージした。反応物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 24 時間攪拌した。粗生成物をセライトを通してろ過し、アルカン (347.3 mg, 80%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.84 – 7.78 (m, 4H), 7.56 – 7.44 (m, 6H), 7.27 – 7.21 (m, 4H), 3.80 (t, 2H,  $J = 6.5$  Hz), 2.73 (td, 4H,  $J = 7.9, 2.4$  Hz), 1.70 (m, 6H), 1.58 – 1.42 (m, 10H), 1.19 (s, 9H), 1.02 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  140.5, 140.4, 135.6, 134.1, 129.5, 129.1, 127.6, 125.7, 63.9, 32.7, 32.6, 32.5, 31.7, 31.3, 29.50, 29.46, 26.9, 25.7, 22.6, 19.2, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3070, 2928, 2856, 1956, 1888, 1823, 1589, 1471, 1427, 1389, 1361, 1188, 1111, 1007, 939, 910, 823, 740, 701, 614  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  633.2525 ( $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{OSi} + \text{Cs}^+$  要求値 633.2529).

#### 【0054】

アルカン (325.7 mg, 0.65 mmol, 1 当量) の無水 THF (6 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、TBAF (THF 中の 1M, 1.3 mL, 1.3 mmol, 2 当量) で処理し、25  $^{\circ}\text{C}$  で 1.5 時間攪拌した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2.5  $\times$  15 cm, 10–33% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) し、アルコール (14.2 mg, 84%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.18 – 7.11 (m, 4H), 3.64 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz), 2.66 – 2.61 (m, 4H), 1.64 – 1.57 (m, 6H), 1.45 – 1.32 (m, 10H), 0.94 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  140.4, 140.2, 129.02, 128.98, 125.7, 125.6, 62.7, 32.6 (2), 32.5, 31.7, 31.22, 31.20, 29.5, 29.4, 25.6, 22.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3340, 2928, 2856, 1489, 1463, 1055, 750  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  262.2308 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O} + \text{Na}^+$  要求値 262.2297).

アルコール (128.9 mg, 0.49 mmol, 1 当量) の無水 DMF (1 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、25  $^{\circ}\text{C}$  下、PDC (0.91 g, 2.4 mmol, 5 当量) で 8 時間処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )

し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2.5 \times 15$  cm, 20 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、酸 (88.1 mg, 65%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.16 – 7.10 (m, 4H), 2.61 (q, 4H,  $J = 7.2$  Hz), 2.37 (t, 2H,  $J = 7.5$  Hz), 1.70 (p, 2H,  $J = 7.7$  Hz), 1.59 (七重項, 4H,  $J = 7.7$  Hz), 1.48 – 1.30 (m, 8H), 0.90 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  180.3, 140.5, 140.0, 129.1, 129.0, 125.8, 125.7, 34.0, 32.7, 32.4, 31.7, 31.3, 30.9, 29.4, 29.1, 24.6, 22.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2928, 2858, 2359, 1709, 1489, 1462, 1412, 1287, 1242, 941, 751  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  299.1976 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_2 + \text{Na}^+$  要求値 299.1987).

酸 (62.3 mg, 0.23 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.2 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、 $0^\circ\text{C}$  下、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の 2M, 0.34 mL, 0.68 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、3時間攪拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を  $0^\circ\text{C}$  に冷却し、過剰量の濃縮  $\text{NH}_4\text{OH}$  (5 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc ( $3 \times 30$  mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2.5 \times 15$  cm, 33–66% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、6 (36.9 mg, 59%) を白色固体として得た。融点  $58 - 59^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.14 – 7.08 (m, 4H), 5.91 (br,  $^1\text{H}$ ), 5.49 (br,  $^1\text{H}$ ), 2.58 (q, 4H,  $J = 6.4$  Hz), 2.20 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.66 (hextet, 2H,  $J = 7.7$  Hz), 1.55 (hex, 4H,  $J = 8.4$  Hz), 1.45 – 1.28 (m, 8H), 0.88 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.7, 140.5, 140.0, 129.1, 129.0, 125.8, 125.7, 35.8, 32.6, 32.4, 31.7, 31.2, 30.9, 29.4, 29.2, 25.4, 22.6, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3366, 3195, 2925, 2855, 1664, 1629, 1491, 1465, 1412, 750  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  276.2329 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{ON} + \text{H}^+$  要求値 276.2327).

【0055】

図7に示す7誘導体

6に類似の態様で、一般的手順 (前記参照) に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。白色固体。融

点 95–96 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.06 (s, 4H), 5.58 (br, 1H), 5.40 (br, 1H), 2.54 (t, 4H,  $J = 7.8$  Hz), 2.18 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 1.57 (m, 6H), 1.35 – 1.25 (m, 12H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.6, 140.2, 139.7, 128.22 (2), 128.19 (2), 35.9, 35.5, 35.4, 31.8, 31.6, 31.3, 29.3, 29.2, 29.0, 28.9, 25.4, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3388, 3187, 2923, 2851, 1645, 1514, 1463, 1416, 1121, 810  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  304.2651 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ON} + \text{H}^+$  要求値 304.2640).

図7に示す8 誘導体及び図20に示すスキーム

6に類似の態様で、一般的手順（前記参照）に正確にしたがい合成した。すべての出発試薬は Aldrich、Acros又は Sigma より購入した。白色固体。融点 87–88 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  7.16 (t, 1H,  $J = 7.7$  Hz), 6.96 (t, 3H,  $J = 6.6$  Hz), 5.66 (br, 1H), 5.42 (br, 1H), 2.55 (t, 4H,  $J = 7.8$  Hz), 2.19 (t, 2H,  $J = 6.0$  Hz), 1.60 (七重項, 6H,  $J = 8.0$  Hz), 1.37 – 1.28 (m, 10H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.8, 142.8, 142.5, 128.5, 128.0, 125.6, 125.5, 35.92, 35.85, 35.81, 31.7, 31.5, 31.3, 29.02 (2), 29.00, 25.3, 22.5, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3352, 3191, 2925, 2854, 1660, 1630, 1466, 1409, 1341, 1311, 1253, 1202, 1138, 896, 777, 702  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  312.2312 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ON} + \text{Na}^+$  要求値 312.2303).

#### 【0056】

図8に示すCH(CH<sub>3</sub>) 誘導体及び図21に示すスキーム

LDAの新鮮溶液を、無水ジイソプロピルアミン (0.47 mL, 3.35 mmol, 2.2 当量) 及び  $n\text{-BuLi}$  (ヘキサン中の2.2M, 1.4 mL, 3.1 mmol, 2 当量) から、無水 THF (6 mL)中、–78 °C 下、Ar下で製造した。オレイン酸メチル (0.4556 g, 1.54 mmol, 1 当量) の THF (1 mL) 溶液を –78 °C下で滴下した。追加の攪拌 50 分後、MeI (0.96 mL, 15.4 mmol, 10 当量) を添加し、反応混合物を 25 °C に暖め、12 時間攪拌した。飽和水性  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (30 mL) を暗オレンジ色溶液に添加し、水性層を EtOAc (3 × 30 mL)で抽出した。有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 × 15 cm, 0 – 5%

EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\alpha$ -Me-エステル (0.4276 g, 90%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  5.33 – 5.30 (m, 2H), 3.64 (s, 3H), 2.40 (s, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 2.00 – 1.96 (m, 4H), 1.64 – 1.60 (m,  $^1\text{H}$ ), 1.39 – 1.24 (m, 21H), 1.11 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  177.4, 130.0, 129.7, 51.4, 39.4, 33.8, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 27.2, 27.1, 22.7, 17.0, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2854, 1741, 1462, 1195, 1157, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHMS (NBA-CsI)  $m/z$  443.1938 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2 + \text{Cs}^+$  要求値 443.1926).

$\alpha$ -Me-エステル (150.5 mg, 0.48 mmol, 1 当量) の THF/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:1:1; 5 mL) 溶液を、LiOH (67.1 mg, 1.6 mmol, 3.3 当量) で処理し、25  $^{\circ}\text{C}$  で15時間攪拌した。LiOH (66.1 mg, 1.58 mmol, 3.3 当量) の第2の部分を添加し、反応物を更に7時間攪拌した。水性 HCl (1N, 30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2  $\times$  15 cm, 5 – 20% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\alpha$ -Me-酸 (111.6 mg, 78%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.37 – 5.29 (m, 2H), 2.43 (s, 1H,  $J = 6.9$  Hz), 1.99 (m, 4H), 1.66 (p, 1H,  $J = 7.2$  Hz), 1.43 – 1.25 (m, 21H), 1.15 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  183.5, 130.0, 129.7, 39.4, 33.5, 31.9, 29.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 27.2, 27.14, 27.10, 22.7, 16.8, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2854, 1708, 1466, 1291, 1239, 941, 723  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHMS (NBA-NaI)  $m/z$  297.2797 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_2 + \text{H}^+$  要求値 297.2794).

#### 【0057】

$\alpha$ -Me-酸 (94.4 mg, 0.32 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.6 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、0  $^{\circ}\text{C}$  下、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の 2M, 0.48 mL, 0.96 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を 25  $^{\circ}\text{C}$  に暖め、3時間攪拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を 0  $^{\circ}\text{C}$  に冷却し、過剰量の濃縮  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3  $\times$  30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2  $\times$  5

cm, 33 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  (70.3 mg, 75%) を白色固体として得た。融点 43–44 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.20 (br, 1H), 5.59 (br, 1H), 5.33 – 5.24 (m, 2H), 2.20 (s, 1H,  $J = 6.8$  Hz), 1.98 – 1.93 (m, 4H), 1.61 – 1.54 (m, 1H), 1.36 – 1.22 (m, 21H), 1.10 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz), 0.83 (t, 3H,  $J = 6.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  179.7, 129.9, 129.7, 40.8, 34.2, 31.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.2, 29.1, 27.3, 27.13, 27.08, 22.6, 17.7, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3360, 3186, 2922, 2852, 1654, 1628, 1466, 1414, 1376, 1140, 722, 697  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA)  $m/z$  296.2959 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 296.2953).

図8に示す $\text{C}(\text{CH}_3)_2$  誘導体及び図21に示すスキーム

LDAの新鮮溶液を、無水ジイソプロピルアミン (0.20 mL, 1.4 mmol, 2.2 当量) 及び  $n\text{-BuLi}$  (ヘキサン中の2.2M, 0.6 mL, 1.3 mmol, 2 当量) から、無水 THF (2.6 mL) 中、 $-78^\circ\text{C}$  下、 $\text{Ar}$  下で製造した。 $\alpha\text{-Me}$ -エステル (0.2024 g, 0.65 mmol, 1 当量) の THF (0.4 mL) 溶液を  $-78^\circ\text{C}$  で滴下した。更に 50 分間攪拌した後、 $\text{MeI}$  (0.41 mL, 6.6 mmol, 10 当量) を添加し、反応混合物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、17 時間攪拌した。飽和水性  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc ( $3 \times 30$  mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2 \times 8$  cm, 0 – 5% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\alpha, \alpha\text{-ジMe}$ -エステル (170.9 mg, 81%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.34 – 5.25 (m, 2H), 3.61 (s, 3H), 1.99 – 1.94 (m, 4H), 1.48 – 1.44 (m, 2H), 1.27 – 1.23 (m, 20H), 1.11 (s, 6H), 0.84 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  178.5, 129.9, 129.7, 51.5, 42.2, 40.8, 31.9, 30.0, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 29.1, 27.14, 27.11, 25.1, 24.9, 22.6, 14.0; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2854, 1736, 1464, 1192, 1152  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA- $\text{NaI}$ )  $m/z$  325.3101 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2 + \text{H}^+$  要求値 325.3107).

【0058】

$\alpha, \alpha\text{-ジMe}$ -エステル (157.6 mg, 0.49 mmol, 1 当量) の THF/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:1

:1; 5 mL) 溶液を、LiOH (408.5 mg, 9.74 mmol, 20 当量) で処理し、25 °C で 19 時間撹拌した。第2の部分のLiOH (408.7 mg, 9.74 mmol, 20 当量) を添加し、反応混合物を更に26時間撹拌した。第3の部分の LiOH (392.0 mg, 9.34 mmol, 19 当量) を添加し、反応物を25°Cで 47 時間、70 °Cで23時間撹拌した。水性 HCl (1N, 30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 8 cm, 5 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\alpha, \alpha$ -ジMe-酸 (123.4 mg, 82%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.37 – 5.28 (m, 2H), 2.00 – 1.97 (m, 4H), 1.53 – 1.49 (m, 2H), 1.32 – 1.25 (m, 20H), 1.17 (s, 6H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  185.3, 130.0, 129.8, 42.1, 40.5, 31.9, 30.0, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3, 29.1, 27.20, 27.16, 24.9, 24.8, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2925, 2854, 1701, 1467, 1277, 1200, 938  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  333.2778 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2 + \text{Na}^+$  要求値 333.2770).

$\alpha, \alpha$ -ジMe-酸 (101.5 mg, 0.33 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.6 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  下、0 °C 下、塩化オキサリル ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の 2M, 0.49 mL, 0.98 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を 25 °C に暖め、3時間撹拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を 0 °C に冷却し、過剰量の濃縮  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 x 5 cm, 33 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、 $\text{C}(\text{CH}_3)_2$  (90.5 mg, 89%) を白色固体として得た。融点 61–62 °C;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.10 (br, 1H), 5.61 (br, 1H), 5.34 – 5.26 (m, 2H), 1.97 – 1.94 (m, 4H), 1.47 – 1.42 (m, 2H), 1.30 – 1.23 (m, 20H), 1.13 (s, 6H), 0.84 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  181.0, 129.9, 129.7, 41.9, 41.3, 31.8, 30.0, 29.70, 29.67, 29.5, 29.3, 29.1, 27.2, 27.1, 25.4, 24.7, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3396, 3213, 3002, 2923, 2851, 1650, 1620, 1466, 1401, 1364, 1109  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-CsI)  $m/z$  310.3115 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NO} + \text{H}^+$  要求値 310.3110).

## 【0059】

図8及び図21に示すスキームに示す「O」誘導体

Aldrichより市販されている。

図8及び図21に示すスキームに示す「NH」誘導体

Aldrichより市販されている。

図8及び図22に示すスキームに示すCH(SH)誘導体

CH(SAc) (72.3 mg, 0.20 mmol, 1 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 mL) 溶液、 $\text{N}^2$  下、 $-78^\circ\text{C}$  下、DIBAL (トルエン中の1M, 0.61 mL, 0.61 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を 1.5 時間撹拌し、第2の部分の DIBAL (トルエン中1M, 0.61 mL, 0.61 mmol, 3 当量) を添加した。30 分後、反応物を  $25^\circ\text{C}$  に暖め、MeOH (2 mL) 及び水性 HCl (5%, 30 mL) を添加した。反応混合物を 15 分間撹拌した。水性層を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 1 x 8 cm, 20 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、CH(SH) (31.5 mg, 49%) を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.22 (br, 1H), 5.46 (br, 1H), 5.37 – 5.28 (m, 2H), 3.28 (q, 1H,  $J = 6.5$  Hz), 2.00 – 1.91 (m, 4H), 1.74 – 1.64 (m, 1H), 1.29 – 1.24 (m, 21H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.0, 130.1, 129.7, 43.0, 35.5, 32.0, 29.8, 29.6, 29.5, 29.3, 29.0, 27.2, 27.1, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3363, 3186, 2923, 2853, 2362, 1662, 1458  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  336.2341 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{ONS} + \text{Na}^+$  要求値 336.2337)。

## 【0060】

図8及び図22に示すスキームに示すCH(SAc)誘導体

$\text{Ph}_3\text{P}$  (182.2 mg, 0.69 mmol, 2 当量) の無水 THF (3.5 mL) 溶液を、 $\text{N}^2$  下、 $0^\circ\text{C}$  下、DEAD (110  $\mu\text{L}$ , 0.70 mmol, 2 当量) で処理し、30 分間撹拌した。チオール酢酸 (50  $\mu\text{L}$ , 0.70 mmol, 2 当量) を添加し、次いで 2-ヒドロキシ-9Z-オクタデセナミド (CH(OH); 103.0 mg, 0.35 mmol, 1 当量) の THF (2.2 mL) 溶液を添加した。反応混合物を  $0^\circ\text{C}$  で 2 時間撹拌し、飽和水性  $\text{NaHCO}_3$  (30 mL) を添加した。水性層を EtOAc (3 x 30 mL) で抽出した。有機層を乾燥 (Na



、 $\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2 \times 10 \text{ cm}$ , 10 – 50% EtOAc/ヘキサン、勾配溶離) に付し、CH(SAc) (96.7 mg, 79%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  6.12 (br, 1H), 5.63 (br, 1H), 5.35 – 5.26 (m, 2H), 3.91 (t, 1H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ ), 2.35 (s, 3H), 2.02 – 1.90 (m, 5H), 1.67 – 1.58 (m, 1H), 1.42 – 1.24 (m, 20H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.9 \text{ Hz}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  196.6, 173.4, 130.0, 129.6, 45.6, 31.9, 30.3, 29.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 29.1, 29.0, 27.2, 27.1, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3448, 3352, 3186, 2923, 2853, 1682, 1457, 1396, 1353, 1259, 1116, 954  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  378.2433 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{O}_2\text{NS} + \text{Na}^+$  要求値 378.2443)。

図8に示すCH(OH)誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938–5945) にしたがって製造した。

図8に示すCHCl誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938–5945) にしたがって製造した。

図8に示すC(=O)誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938–5945) にしたがって製造した。

図8に示すC(=O)CH<sub>2</sub>誘導体

既報 (JACS, 1996, 118, 5938–5945) にしたがって製造した。

【0061】

図3に示す1-ブromo-10Z-ノナデセン-2-オン

1-ジアゾ-10Z-ノナデセン-2-オン (15, 92 mg, 0.30 mmol, 1 当量、本明細書の記載にしたがって製造) を、HBr (1.5 mL) で飽和した EtOAc 溶液で処理した。反応混合物を 25 °C で 25 分間攪拌した。溶媒を  $\text{N}_2$  流により除去し、粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ ,  $2 \sim 8 \text{ cm}$ , 0–5% EtOAc–ヘキサン勾配溶離) に付し、41 (99 mg, 92%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.37–5.28 (m, 2H), 3.86 (s, 2H), 2.62 (t, 2H,  $J = 7.4 \text{ Hz}$ ), 2.02–1.96 (m, 4H), 1.59 (m, 2H), 1.28–1.24 (m, 20H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.9 \text{ Hz}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  202.0, 130.0, 129.7, 39.8, 34.3, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3(2), 29.2, 29.04, 28.99, 27.2, 27.1, 23.8, 22.7, 14.1; IR (フ

イルム)  $n_{\max}$  2924, 2853, 1718, 1560, 1262, 1103, 1026  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NB A-NaI)  $m/z$  381.1760 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{43}\text{BrO} + \text{Na}^+$  要求値 381.1769).

図3に示す9Z-ドコセン (Docosen) -1-オール

9-プロモノナノールを保護 (TBDPSCl, 1.1 当量, Et<sub>3</sub>N, 1.2 当量, DMAP, 0.3 当量, 25 °C, 2.5 時間) し、PPh<sub>3</sub> (1.3 当量, CH<sub>3</sub>CN, 85 °C, 12 時間) で処理し、ホスホニウム塩 (285 mg, 0.42 mmol, 1 当量) を生成した。これをAr 下、-78 °C下、無水THF (2.6 mL)に溶解した。溶液を、滴下したKHMDs (トルエン中0.5 M, 0.85 mL, 0.43 mmol, 1 当量) で処理し、-78 °Cで40分間攪拌し、トリデカナール (100 mL, 0.42 mmol, 1 当量) を添加した。反応物を 25 °C に暖め、1 時間攪拌し、飽和水性 NH<sub>4</sub>Cl (30 mL) を添加した。水性層を EtOAc (3 ~ 30 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィーに付した。次に、前記生成物 (128 mg, 0.23 mmol, 1 当量) のTHF (2.2 mL) 溶液を、N<sub>2</sub>下、Bu<sub>4</sub>NF (THF中の1 M, 0.46 mL, 0.46 mmol, 2 当量) で処理し、25 °C で 2.5 時間攪拌した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 ~ 30 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 2 ~ 5 cm, 5-33% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、72 (51 mg, 6 9%) を白色のフィルムとして得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  5.36-5.29 (m, 2H), 3.62 (t, 2H, J = 6.6 Hz), 2.02-1.97 (m, 4H), 1.54 (m, 2H), 1.28-1.24 (m, 30H), 0.86 (t, 3H, J = 6.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  129.9, 129.8, 63.1, 32.8, 31.9, 29.73 (2), 29.67 (2), 29.64 (3), 29.6, 29.5, 29.39, 29.35, 29.31, 29.2, 27.2, 25.7, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $n_{\max}$  3328, 2923, 2852, 1457, 1055  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  325.3475 ( $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O} + \text{H}^+$  要求値 325.3470).

【0062】

4-[(6R\*,1R\*)-6-ブトキシメチル-3-シクロヘキシル-1-メトキシ]ブチルアミド (化合物#5, 図7のトランス異性体)の合成 (注: この化合物は図7には示されないが、請求の範囲には含まれる。)

ブチルアルデヒド (2.0 mL, 22.2 mmol, 3 当量) 及びピリジニウム p-トルエ

ンスルホン酸 (191 mg, 0.76 mmol, 0.1 当量) を、市販の [1(R\*)6(R\*)-ヒドロキシメチル-3-シクロヘキセニル] (1.07 g, 7.5 mmol, 1 当量; Aldrich) の無水ベンゼン (25 mL) 溶液へ、N<sub>2</sub> 雰囲気下で添加した。反応物をDean-Starkトラップを用いて1.5時間加熱して還流した。飽和水性 NaHCO<sub>3</sub> (60 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 ~ 60 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 3 ~ 15 cm, 0-10% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、147 (1.12 g, 76%) を透明な油として得た (低 R<sub>f</sub> のジアステレオマー): <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 5.59 (s, 2H), 4.70 (t, 1H, J = 5.6 Hz), 3.78 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 3.75 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 3.55 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 3.52 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 2.15-2.02 (m, 6H), 1.54-1.48 (m, 2H), 1.34 (m, 2H), 0.89 (t, 3H, J = 7.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 125.2(2), 102.1, 68.4 (2), 37.0 (2), 36.7, 26.1 (2), 18.0, 13.9; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 3024, 2959, 2931, 2873, 1732, 1462, 1378, 1271, 1143, 991, 825 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS はアセタールを開けた (open up)。次いで、前記物質 (98 mg, 0.50 mmol, 1 当量) の無水 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) 溶液を、N<sub>2</sub> 雰囲気下、0 °C 下、DIBAL (トルエン中 1 M, 2.5 mL, 2.5 mmol, 5 当量) で 15 分間処理した。反応物を 25 °C で 3.5 時間暖めた。反応混合物を 0 °C に再冷却し、CH<sub>3</sub>OH (2 mL) 及び 1 N 水性 HCl (30 mL) を添加した。15 分後、水性層を EtOAc (3 ~ 30 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>, 2 ~ 8 cm, 10-20% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、148 (86.7 mg, 88%) を透明な油として得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 5.60-5.54 (m, 2H), 3.61-3.28 (m, 7H), 2.16-1.92 (m, 6H), 1.53 (m, 2H), 1.34 (hex, 2H, J = 7.6 Hz), 0.88 (t, 3H, J = 7.4 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 125.7, 125.3, 72.3, 71.2, 64.4, 38.2, 35.1, 31.5, 28.0, 26.2, 19.3, 13.8; IR (フィルム) ν<sub>max</sub> 3395, 3022, 2957, 2571, 1463, 1439, 1378, 1112 1037, 622 cm<sup>-1</sup>; FABHRMS (NBA-NaI) m/z 199.1694 (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub> + H<sup>+</sup> 要求値 199.1698)。次に、前記化合物 (91 mg, 0.46 mmol, 1 当量) の無水 DMF (2.5 mL) 溶液を、N<sub>2</sub> 雰囲気下、0 °C 下、NaH (39 mg, 0.99 mmol, 2 当量) で処理した。反応物

を25℃で15分間攪拌し、次いで0℃に再冷却した。4-ブロモブチロニトリル(230 mL, 2.3 mmol, 5 当量)を滴下し、反応混合物を90℃で24時間、140℃で17時間攪拌した。水(30 mL)を添加し、水性層をEtOAc(3 X 30 mL)で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー( $\text{SiO}_2$ , 2 ¥ 10 cm, 2-20% EtOAc-ヘキサン勾配溶離)に付し、149(25 mg, 20%)を透明な油として得た。 $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.60 (s, 2H), 3.52-3.25 (m, 8H), 2.44 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 2.15-2.08 (m, 4H), 1.91-1.84 (m, 4H), 1.52 (m, 2H), 1.35 (m, 2H), 0.89 (t, 3H,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  125.7, 125.4, 119.6, 72.0, 71.6, 70.9, 68.2, 34.7, 34.6, 31.8, 27.0, 26.8, 25.8, 19.4, 14.1, 13.9; IR(フィルム)  $\text{rmax}$  3020, 2930, 2866, 1726, 1463, 1438, 1377, 1113, 662  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS(NBA-NaI)  $m/z$  266.2125 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_2 + \text{H}^+$  要求値 266.2120).更に150(28 mg, 27%)を透明な油として分離した。 $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.05 (s, 1H), 5.65-5.57 (m, 2H), [4.22 及び 4.20][d, 1H,  $J = 5.8$  Hz], [4.10 (d,  $J = 8.6$  Hz) 及び 4.08 (d,  $J = 9.0$  Hz)][1H], 3.43-3.28 (m, 4H), 2.27-2.09 (m, 4H), 1.96-1.86 (m, 2H), 1.52 (m, 2H), 1.34 (m, 2H), 0.89 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  161.2, 125.8, 124.9, 71.5, 71.0, 64.9, 34.5, 33.8, 31.8, 26.8, 26.5, 19.3, 13.9; IR(フィルム)  $\text{rmax}$  3024, 2958, 2928, 2862, 1727, 1466, 1439, 1378, 1167, 1113, 663  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS(NBA-NaI)  $m/z$  227.1655 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3 + \text{H}^+$  要求値 227.1647).

【0063】

前記化合物(320 mg, 1.61 mmol, 1 当量)の無水DMF(8 mL)溶液を、 $\text{N}_2$ 雰囲気下、0℃下、NaH(77 mg, 1.93 mmol, 1.2 当量)で15分間処理した。151(0.95 g, 2.31 mmol, 1.4 当量)のDMF(3 mL)溶液を添加し、反応混合物を25℃で17時間攪拌した。 $\text{Bu}_4\text{NI}$ (0.60 g, 1 当量)を添加し、反応物を7時間攪拌し、60℃で19時間加熱した。水(30 mL)を添加し、水性層をEtOAc(3 ~ 30 mL)で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー( $\text{SiO}_2$ , 2 ~ 10 cm, 0-20

% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、生成物 (123 mg, 15%) を透明な油として得た。次に、前記化合物 (111 mg, 0.22 mmol, 1 当量) の無水 THF (2 mL) 溶液を、 $N_2$  雰囲気下、25 °C 下、 $Bu_4NF$  (THF中1 M, 0.44 mL, 0.44 mmol, 2 当量) で 3 時間処理した。水 (30 mL) を添加し、水性層を EtOAc (3 X 30 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 ( $Na_2SO_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィーに付した。次に、前記化合物 (33 mg, 0.12 mmol, 1 当量) の無水 DMF (0.6 mL) 溶液を、 $N_2$  雰囲気下、PDC (0.23 g, 0.61 mmol, 5 当量) で処理した。反応物を 25 °C で 4.5 時間攪拌し、セライトを通してろ過し、減圧下で濃縮した。次いで、前記化合物 (41 mg, 0.14 mmol, 1 当量) の無水  $CH_2Cl_2$  (0.8 mL) 溶液を、 $N_2$  下 0 °C 下、塩化オキサリル ( $CH_2Cl_2$  中 2 M, 0.21 mL, 0.42 mmol, 3 当量) で処理した。反応混合物を 25 °C に暖め、暗中で 3 時間攪拌し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を 0 °C に冷却し、EtOAc で希釈し、過剰量の  $NH_4OH$  (1 mL) で処理した。水 (30 mL) を添加し、EtOAc (3 X 30 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 ( $Na_2SO_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $SiO_2$ , 1 X 10 cm, 50-100% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、生成物 (21 mg, 52%) を透明な油として得た。次に、前記シクロヘキセン化合物 (21 mg, 0.074 mmol, 1 当量) の溶液と 10% Pd/C (11 mg) とを  $Ar$  雰囲気下で組み合わせた。無水 EtOH (1 mL) を添加し、雰囲気を  $H_2$  で置換した。反応物を 25 °C で 21 時間続けた。第2の部分の 10% Pd/C (20 mg) を添加し、反応物を更に 16 時間攪拌した。粗混合物をセライトを通してろ過し、溶媒を減圧下で除去し、生成物 (19 mg, 89%) を透明な油として得た。

#### 【0064】

最終的に、4-[(6R\*, 1R\*)-6-ブトキシメチル-3-シクロヘキセニル-1-メトキシ]ブチルアミドを、前記化合物 (31 mg, 0.12 mmol, 1 当量) 及び粉末化 KOH (62 mg, 1.1 mmol, 9 当量) の  $t$ -ブタノール (0.12 mL) 溶液を 100 °C で 30 分間加熱した。粗反応物を 25 °C に冷却し、塩水 (2 mL) で希釈し、EtOAc (5 ~ 2 mL) で抽出した。組み合わせた有機層を乾燥 ( $Na_2SO_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $SiO_2$ , 1 ~ 6 cm, 50-80% EtOAc-

ヘキサン勾配溶離)に付し、最終生成物(25 mg, 76%)を透明な油として得た。  
 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.79 (br, 1H), 5.60 (s, 2H), 5.31 (br, 1H), 3.46–3.25 (m, 8H), 2.32 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 2.16–2.06 (m, 4H), 1.93–1.85 (m, 4H), 1.55–1.48 (m, 2H), 1.38–1.28 (m, 2H), 0.89 (t, 3H,  $J = 7.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.4, 125.7, 125.5, 71.8, 71.4, 70.9, 69.8, 34.7, 34.5, 32.8, 31.8, 27.1, 26.8, 25.4, 19.4, 13.9; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3341, 3203, 3022, 2929, 2860, 1667, 1435, 1404, 1377, 1110, 661  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  284.2235 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NO}_3 + \text{H}^+$  要求値 284.2226).  
 4-[(1R\*, 2R\*)-6-ブトキシメチル-3-シクロヘキシル-1-メトキシ]ブチルアミド (化合物 #5、図 7 のトランス異性体) の合成 (注: この化合物は図 7 には示されないが、請求の範囲には含まれる。)

シクロヘキセン (19 mg, 0.068 mmol, 1 当量、前出) と、10% Pd/C (21 mg) とを、 $\text{Ar}$  雰囲気下で組み合わせた。無水 EtOH (1 mL) を添加し、雰囲気を  $\text{H}_2$  で置換した。反応物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 24 時間攪拌した。粗混合物をセライトを通してろ過し、溶媒を減圧下で除去し、164 (18 mg, 91%) を透明な油として得た。  
 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.83 (br, 1H), 5.34 (br, 1H), 3.44–3.25 (m, 8H), 2.32 (t, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 1.95–1.85 (m, 4H), 1.55–1.29 (m, 12H), 0.89 (t, 3H,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175.4, 71.7, 71.3, 70.8, 69.8, 37.5, 37.2, 32.8, 31.8, 26.9, 26.6, 25.5, 23.7, 23.5, 19.4, 13.9; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  3351, 3194, 2916, 2855, 1667, 1614, 1446, 1377, 1261, 1104, 667  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  308.2194 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{NO}_3 + \text{Na}^+$  要求値 308.2202).

#### 【0065】

メタンスルホン酸 7Z-ヘキサデセニルエステルの合成、請求の範囲には含まれないが、図 3 に示す化合物に類似している。

7Z-ヘキサデセノール (42 mg, 0.18 mmol, 1 当量) 及び無水  $\text{Et}_3\text{N}$  (55 mL, 0.39 mmol, 2.2 当量) の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.8 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  雰囲気下、 $\text{MsCl}$  (30 mL, 0.39 mmol, 2.2 当量) で処理した。反応物を 25  $^{\circ}\text{C}$  で 4 時間攪拌し、水 (2 mL) を添加した。水性層を EtOAc (5 ~ 2 mL) で抽出し、組み合わせた有機

層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 ~ 8 cm, 10-20% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、175 (56 mg, 100%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.37-5.27 (m, 2H), 4.19 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz), 2.97 (s, 3H), 1.99 (m, 4H), 1.72 (m, 2H), 1.41-1.24 (m, 18H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  130.2, 129.3, 70.1, 37.3, 31.8, 29.7, 29.5 (2), 29.3 (2), 29.1, 28.6, 27.2, 26.9, 25.3, 22.6, 14.1; IR (フィルム)  $\text{rmax}$  2924, 2854, 1463, 1356, 1176, 954, 816, 719  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA-NaI)  $m/z$  341.2135 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{S} + \text{Na}^+$  要求値 341.2126).

1-アジド-7Z-ヘキサデセンの合成、請求の範囲には含まれないが、図3に示す化合物に類似している。

メタンスルホン酸 7Z-ヘキサデセニルエステル (49 mg, 0.15 mmol, 1 当量、前出) の無水 DMF (1.0 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  雰囲気下、 $\text{NaN}_3$  (21 mg, 0.32 mmol, 2.2 当量) で処理した。反応物を 25  $^\circ\text{C}$  で 23 時間攪拌し、水 (2 mL) を添加した。水性層を EtOAc (5 X 2 mL) で抽出し、組み合わせた有機層を乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) し、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をクロマトグラフィー ( $\text{SiO}_2$ , 2 ~ 5 cm, 0-2% EtOAc-ヘキサン勾配溶離) に付し、176 (37 mg, 90%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.38-5.28 (m, 2H), 3.24 (t, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 2.00 (m, 4H), 1.58 (m, 2H), 1.39-1.25 (m, 18H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  130.2, 129.5, 51.5, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3 (2), 28.80, 28.76, 27.2, 27.0, 26.6, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\text{rmax}$  2925, 2854, 2094, 1460, 1260  $\text{cm}^{-1}$ ; ESMS (NBA-NaI)  $m/z$  288 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ).

#### 【0066】

7Z-ヘキサデセンアミンの合成、請求の範囲には含まれないが、図3に示す化合物に類似している。

アジド (57 mg, 0.22 mmol, 1 当量、前出) の無水  $\text{Et}_2\text{O}$  (1.0 mL) 溶液を、 $\text{N}_2$  雰囲気下、0  $^\circ\text{C}$  に冷却し、 $\text{LiAlH}_4$  (19 mg, 0.50 mmol, 2.3 当量) で処理した。反応物を 25  $^\circ\text{C}$  で 20 分間攪拌した。次いで混合物を 0  $^\circ\text{C}$  に再冷却し、飽

和水性  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  を添加し、すべての過剰量の  $\text{LiAlH}_4$  をクエンチした。固体  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  を添加し、混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除去して、177 (44 mg, 86%) を透明な油として得た。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  5.36–5.28 (m, 2H), 2.67 (br, 2H), 2.00–1.96 (m, 4H), 1.45–1.24 (m, 20H), 0.85 (t, 3H,  $J = 6.7$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  130.0, 129.7, 42.2, 31.9, 29.8, 29.7 (2), 29.5, 29.3 (2), 29.1, 27.2, 27.1, 26.8, 22.7, 14.1; IR (フィルム)  $\nu_{\text{max}}$  2923, 2853, 1570, 1464, 1312, 818, 724  $\text{cm}^{-1}$ ; FABHRMS (NBA–NaI)  $m/z$  240.2698 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N} + \text{H}^+$  要求値 240.2691)。

#### 材料

脂肪酸一級アミド (図 2) を、対応のカルボン酸及び塩化オキサリルから生成した酸クロライドを、水性  $\text{NH}_4\text{OH}$  で、Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580–590; Patterson et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 5938–5945) の記載にしたがい処理することにより製造した。多数の脂肪酸が市販されており (Sigma, Aldrich, Fluka)、残りの脂肪酸は、下記のようにして合成した。図 3 におけるほとんどの試薬は、塩化オレオイルを適切なアミン又はアルコールを用いて、Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580–590; Patterson et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 5938–5945; Roe et al. J. Am. Chem. Soc. 71, 2215–2218; Roe et al. (1952) J. Am. Chem. Soc. 74, 3442–3443) にしたがって縮合させることにより製造した。図 3 における残りの薬剤は市販されている (Sigma, Pfaltz & Bauer)、又は、下記のようにして製造した。エタノールアミド (図 4) は同様にして製造するか、又は、購入した (Pfaltz & Bauer)。18-ヒドロキシオレアミドの合成は、Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580–590 に記載されており、本明細書において詳述するプロトコルにしたがう標準的な変換を使用して、図 5 に示す残りの薬剤を製造した。N-オレオイルグリシン (図 6) は、EDCI を用いてグリシンエチルエステルをオレイン酸にカップリングし (Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580–590; Patterson et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 5938–5945)、カルボン酸 ( $\text{LiOH}$ ) 及びグリシンアミド (EDCI,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) に連続的に変換することにより製造した。N-オレオイルサルコシンは購入し (Pfaltz and Bauer)、EtOH (DCC) とのカップ



リングによりエチルエステルに変換した。図7の薬剤は、Cravatt et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 580-590; Simmons et al. (1959) J. Am. Chem. Soc. 81, 4256-4264)にしたがい、又は、適切な *o*、*m*又は *p*-シアノベンズアルデヒドへの一連のウィテッヒカップリングにより製造した。 $\alpha$ -炭素における置換 (Figure 8) は、Patterson et al. (1996) J. Am. Chem. Soc. 118, 5938-5945)の詳述な記載にしたがい、オレイン酸のエノラート又はオレイン酸メチル (LDAにより生成) を適切な求電子試薬で処理することにより導入した。一級カルバメート及びウレタンは、対応のアルコール又はアミンから製造した (HCl, NaOCN)。

#### 【0067】

##### 細胞培養

Dr. Trosko's laboratoryより入手したラットグリア細胞 (Suter et al., 1987) を、標準プラスチック組織カルチャーウェア (cultureware) 中、10% ウシ胎仔血清及び 50  $\mu$ g/ml 硫酸ゲンタマイシンを補充した Richter's 改変最小基本培地 (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) 中で培養し、95% 空気/5% CO<sub>2</sub> の加湿雰囲気中、37℃でインキュベートした。細胞をトリプシン処理により継代し、4-8世代を使用した。 $\beta$ 1 コネキシンcDNA (Kumar et al., 1995) を安定にトランスフェクトしたBHK (ハムスター仔の腎臓) 細胞を、5% ウシ胎仔血清及び 50  $\mu$ g/ml 硫酸ゲンタマイシンを補充したDMEM培地中で培養し、95% 空気/5% CO<sub>2</sub> 加湿雰囲気中、37℃でインキュベートした。BHK細胞における $\beta$ 1 コネキシン発現を誘導するために、細胞培養が薬90%コンフルエントになったとき、100  $\mu$ M 酢酸亜鉛を8~18時間かけて培地に添加した。

##### ギャップ結合色素結合アッセイ

グリア細胞及び BHK/ $\beta$ 1 細胞培養におけるギャップ結合連絡を、5% ルシファーイエロー CH 色素の 0.1 M LiCl 溶液の微量注入によりアッセイし、色素を受け取った (色素結合) 直接隣接する隣接細胞の数を測定することにより定量化した。充填により色素をマイクロピペットに入れた。細胞を、Nikon Diaphot 倒立対照/エピフルオレセント (epifluorescent) 顕微鏡を使用して可視化し、Eppendorf microinjector (model 5246) を使用して色素が入ったマイクロピ

ペットを突き刺した。色素注入5分後、直接隣接する細胞への色素の移動を エピフルオレセント照明を使用して測定した。各処理条件について、3つの皿のそれぞれにおいて、10細胞を微量注入し、色素結合した隣接細胞の全数を計算し、比較して、色素結合%を決定した。スクレープローディング測定のために、鋭いメスを用いて単層の細胞を切断又はスクレープ (scrape) することにより、ルシファーイエロー CH (PBS中に0.05% 色素) を細胞内に入れた。色素溶液を皿中に 90 秒間残し、次いで皿を PBSで洗浄した。倒立型エピフルオレセント顕微鏡を用いて細胞を色素移動について試験し、ルシファーイエローの近接細胞への移動の程度を測定することにより連絡の程度を試験した。

#### 【0068】

##### ギャップ結合電気的共役アッセイ

接合部の伝導性を、Kaspartate 160, EGTA 10,  $\text{CaCl}_2$  2, HEPES 10 (pH 7.2), ATP 4 (nM) からなるピペット溶液を用い、文献(Miller et al., (1992) J Mem. Biol. 128, 91-102)にしたがい、ラットグリア細胞の対に対して行った二重の細胞全体のパッチの記録 (double whole cell patch recording) を使用して測定した。外液は、NaCl 160, KCl 4.5,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  1, HEPES 10 mM, pH 7.4を含んでいた。両方の細胞を  $-40$  mV に維持し、 $-20$  mV へのパルスを各細胞に適用した。示された記録において保持電流を減算した。試験した細胞は一般的にその他の細胞と接触していた。電気的伝導性を、20 mVにより分けられる接合部電流として計算した。すべての色素結合及び伝導性研究は、室温下で行った。

##### カルシウム波イメージ

ラットグリア細胞に、25 mM HEPES 緩衝液 (HBSS/HEPES) を含むHank's 平衡塩類溶液中の5  $\mu$ M Fluo-3/AM (Calbiochem)を1時間かけて入れた。この時点でローディング緩衝液を新しい HBSS/HEPES 緩衝液に交換した。次いで細胞培養を少なくとも30分間室温下に放置した。単一細胞の機械的刺激は下記のようにして行った。ガラス製マイクロピペット (約0.5  $\mu$ mの先端径) を単一細胞に対して下方にマイクロマニピュレートし、細胞膜の一過性の変形を引き起こした。次いで倒立蛍光顕微鏡を用いてカルシウムイメージについて試験し、デジタル蛍光顕

微鏡を用いて写真を撮影した（励起 = 506 nm, 放射 = 526 nm）。カルシウム波伝播の程度を、刺激した細胞から一直線方向に離れた伝達細胞の数を異なる時間時点で計数することにより定量化した。接合部の色素移動速度を、同一の皿におけるルシファーイエローCHの微量注入により同時に測定した。色素移動アッセイ方法は、アッセイ手順、ギャップ結合色相結合アッセイに記載されている。カルシウム波及び色素移動研究について、薬剤をグリア細胞と共に10分間ブレインキュベートし、試験中、薬剤を実験溶液中に残した。すべての測定は室温下で行った。

#### 【0069】

##### イムノプロット

ギャップ結合を含む原形質膜画分は、グリア細胞の低浸透圧性アルカリ抽出後に得られた。抽出したタンパク質を 2% SDS に溶解し、全タンパク質を Bio-Rad DC Protein Assay kit (Bio-Rad Corp.) を使用して測定した。10  $\mu$ g のタンパク質を 10% SDS-PAGE により電気泳動し、続いてイモビロン-P 膜 (Millipore Corp.) へ電気泳動的にプロットした。ギャップ結合タンパク質を、抗- $\alpha$ 1コネキシンポリクローナルウサギ抗体及びHRP/Chemiluminescence 検出キット (Amersham Corp.) を製造者の指示にしたがい使用して検出した。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

図1は、睡眠誘発性脂質、オレアミド(シス-9-オクタデセナミド, 18:1<sup>9</sup>)の構造を示している。

##### 【図2】

図2は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有する脂肪酸一級アミド類似体を示している。示した注釈は下記の通りである。(a)鎖長：二重結合の数、二重結合の位置、特に述べない限り二重結合の立体化学はシスである。(b)示した薬剤濃度における、ラットグリア細胞のギャップ結合によるルシファーイエロー色素移動の阻害%。(c)低溶解性が高濃度における試験を不可能にした。(d)移動せず(22:1<sup>9</sup>について、合成については図18を参照)。

##### 【図3】

図3は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するカルボキサミド末端類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害、図2参照。(b)移動せず。(c)試験した濃度においては細胞に対して毒性であった。(d)25 mMで試験。(e)試験した濃度では不溶性。(f)可逆性阻害。

【図4】

図4は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するエタノールアミド置換類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害、図2参照。(b)移動せず。(c)ラセミ及び(2S)-1-オレイル-2-アセチルグリセロール。

【図5】

図5は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するメチル末端置換類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害、これらの化合物のいくつかについての更なるデータ及び合成経路については図2及び図19参照。

【図6】

図6は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するN-オレイルグリシン置換類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害、図2参照。(b)移動せず。(c)低溶解性。

【図7】

図7は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するオレフィン修飾類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%、図2参照。(b)移動せず。(c)低溶解性が高投与量における試験を不可能にした。これらの化合物のうちのいくつかについての合成経路は図20を参照。

【図8】

図8は、ギャップ結合媒介性色素移動の阻害%を有するリンカー修飾置換類似体を示している。示した脚注は下記の通りである。(a)ギャップ結合媒介性色素移動の阻害、図2参照。(b)移動せず。(c)150 mMで試験。(d)可逆性。これらの化合物のうちのいくつかについての合成経路は図21及び22を参照。

【図9】

図9は、カルシウム波伝播 (calcium wave propagation) 及びギャップ結合連絡に対する異なる薬剤の作用を示している。カルシウム波伝播に関係する細胞数を、刺激した細胞から1方向において反応した細胞の数を計数することにより定量化した。カルシウムシグナル伝達の開始後、示される時間点に分析した。反応細胞数は平均±標準偏差として表した。ギャップ結合色素移動は、色素結合の百分率 (平均±標準偏差) として表した (アッセイ手順の欄に記載)。各処理は3つの皿において行い、各皿において10の独立したフィールドを試験した。N = 30。

#### 【図10】

図10は、ラットグリア細胞間のギャップ結合媒介性色素移動のオレアミド阻害を示している。培養したラットグリア細胞 (A 及び D、相) に、ルシファーイエロー (B 及び E) を微量注入したところ、(C) 対照条件 (培地中に0.1% エタノールが存在) 下において隣接細胞への効率的な色素移動を示した。(F) グリア細胞の  $50 \mu\text{M}$  オレアミドによる 10 分間の処理により、色素移動は完全にブロックされた。グリア細胞を、ルシファーイエローとともにスクレープロート (scrape load) したところ (G、相)、対照条件下で色素が色素をロードした細胞から隣接細胞 (H) へ効率的に移動した。オレアミド (I) で処理したとき、色素は隣接細胞へ伝播しなかった。スケールバー =  $50 \mu\text{m}$ 。

#### 【図11】

図11は、(J) 色素移動のオレアミド誘導性ブロックの用量反応研究を、ルシファーイエロー注入前にグリア細胞を種々の濃度のオレアミド ( $5 \sim 100 \mu\text{M}$ ) で4時間処理し、色素移動をモニターすることにより行ったことを示している。色素移動の約50%の阻害が、 $20 \mu\text{M}$  オレアミドを用いたときに観察された。(K) ギャップ結合性色素移動のオレアミド誘導性ブロックの時間経過を、ルシファーイエロー注入前にグリア細胞を  $50 \mu\text{M}$  オレアミドで示された時間処理することにより測定した。ギャップ結合に対するオレアミドの可逆性の作用は、オレアミド含有培地を培養皿から除去し、オレアミドを含まない新鮮培地中で再培養し、引き続き色素移動をモニターすることにより確立した。色素移動の対照レベルへの完全な回復が、オレアミド除去後1時間以内に観察された。

## 【図12】

図12は、色素の伝播の観察を組み合わせた2重の細胞全体のパッチ記録 (patch recording) を使用して、培養したラットグリア細胞におけるギャップ結合部の伝導性を評価したことを示している。(A) 各細胞に印加した電圧の時間経過。細胞を  $-40\text{ mV}$  で維持し、第1の細胞、次いで第2の細胞を  $-20\text{ mV}$  にステップ (step) した。太線は細胞1に印加した電圧を示し、細線は細胞2に印加した電圧を示している。(B) 及び (C) は、(A) に示す電圧プロトコルに対する細胞応答を示している。太線は細胞1における電流を示し、細線は細胞2における電流を示している。上向きの電流の偏向 (deflection) は、電位が  $-40\text{ mV} \sim -20\text{ mV}$  に変化した細胞における表面膜及び接合部の電流の合計を示している。50 ミリ秒  $\sim$  150 ミリ秒の上向きの偏向は細胞1における電流であり、200  $\sim$  300 ミリ秒の偏向は細胞2における電流である。下向きの偏向は、 $-40\text{ mV}$  に維持した細胞において記録された接合部電流のみからなる。(B) において、大きな下向きの電流の偏向は、十分に共役した対照細胞の対を示している。第1のセルをパルス (pulse) し、次いで他方をパルスすることにより誘発された上向きの偏向は大きさが異なるけれども、20 mV のトランスジャンクショナル電流 (transjunctional voltage) により誘発された下向きの電流の偏向は同じ大きさであり、このことは、20 mV の駆動力 (driving force) は、細胞がパルスされるにもかかわらず、一定の接合部電流を生成することを証明していることに留意すべきである。(C) において、20 mV のパルスに反応する下向きの電流の偏向の欠如は、50  $\mu\text{M}$  オレアミドに曝露した細胞の異なる対が完全に脱共役されたことを示している。パネル(D)は、(B) 及び (C) に示される測定のための最初の150ミリ秒の間の対照及び実験細胞対の接合部電流を比較している。オレアミドに曝露した細胞対からは、検出可能な下向きの電流の偏向は、痕跡において存在しなかったことに留意すべきである。この場合、データは、50 pS より小さい残留接合部伝導性に上限を設定した。したがって、接合は完全に脱共役された。8つの細胞対について行った測定において、対照対の平均結合伝導性は  $13 \pm 7\text{ nS}$  ( $n=3$ ) であり、50  $\mu\text{M}$  オレアミドに曝露した細胞対の平均結合伝導性は  $0.5 \pm 0.7\text{ nS}$  ( $n=5$ ) であった。

## 【図13】

図13は、ギャップ結合色素移動のオレアミド誘導性ブロックの構造-活性研究を行うことにより、オレアミドの化学的特徴のどれがその阻害作用に必要であるかを評価したことを示している。オレイン酸及びトランス-9-オクタデセナミドは色素移動に対して作用しなかったが、残りのシス-モノ不飽和脂肪酸アミド、オレアミドは最も強力な阻害剤であることが証明された。オレアミドの効力の順番は下記の通りである。シス-8-オクタデセナミド > オレイル エタノールアミド > シス-11-オクタデセナミド。更にオレアミドを、その他のギャップ結合阻害剤であるアナンダミド、 $18\beta$ -GA 及びヘプタノールと比較した。

【図14】

図14は、BHK/ $\beta$ 1細胞間のギャップ結合色素移動に対するオレアミドの作用を示している。亜鉛誘導の存在下、BHK/ $\beta$ 1細胞(A及びC、相)にルシファーイエローを微量注入したところ、対照条件下(B)(培地中、0.1%エタノールと共に)においては隣接細胞への効率的な色素移動を示したが、オレアミドで処理した細胞(D)(50  $\mu$ M オレアミドで10分間)では色素移動は示さなかった。

【図15】

図15は、(E)異なる処理条件下におけるBHK/ $\beta$ 1細胞間の色素移動速度の比較を示している。亜鉛誘導なしのBHK/ $\beta$ 1細胞は、色素移動の発生率は低かった(10.2±4.2%)。亜鉛を培地へ8~18時間添加した後、色素移動は有意に増加した(95±4.5%)。50  $\mu$ M オレアミドは、亜鉛誘導サンプルにおいて色素移動を完全にブロックした(0.31±0.24%)。アナンダミド(50  $\mu$ M)、 $18\beta$ -GA (50  $\mu$ M)及びヘプタノール(3 mM)は、同様の阻害を示した。一方、オレイン酸(50  $\mu$ M)及びトランス-9-オクタデセナミド (50  $\mu$ M)は色素移動に作用しなかった(E)。すべての測定は処理4時間後に行った。スケールバー = 50  $\mu$ M。

【図16】

図16は、ラットグリア細胞におけるカルシウム波伝播に対するオレアミド及び $18\beta$ -GAの作用を示している。ラットグリア(相、A)に、カルシウム-指示薬色素であるFluo-3をロードし、細胞内の遊離のカルシウム濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )の変化を、機械的刺激前(B)及び機械的刺激後(C-F)の両方における蛍光色素強度の変化として記録した。蛍光の変化を倒立蛍光顕微鏡でモニターした。40  $\mu$ M  $18\beta$ -GAの存

在下（機械的刺激前に10分前グリア細胞と共にインキュベート）、機械的刺激により刺激細胞においては $[Ca^{2+}]_i$ が増加したが、この $[Ca^{2+}]_i$ 変化はその他すべての細胞へは伝播しなかった(C)。対照的に、50  $\mu$ M オレアミドで処理したグリア細胞(10分間～4時間のブレインキュベート)では、機械的刺激により $[Ca^{2+}]_i$ が増加し、これは対照細胞集団と区別することができない態様で長距離の細胞へ伝播した(D-F、波伝播の時間経過、D、2秒間、E、4秒間、F、8秒間)。スケールバー = 30  $\mu$ m。異なる薬剤で処理した細胞及び対照細胞集団におけるカルシウム波伝播を定量的比較については、図9を参照のこと。

#### 【図17】

図17は、オレアミド及びその不活性構造類似体で処理したグリア由来の $\alpha$ 1コネキシンタンパク質のウェスタンブロット分析を示している。レーン1は、0.1% エタノールで4時間処理した対照細胞のサンプルを含んでいる。レーン2～4は、それぞれ50  $\mu$ M オレイン酸、50  $\mu$ M トランス-9-オクタデセナミド及び50  $\mu$ M オレアミドでそれぞれ4時間処理した細胞のサンプルを含んでいる。オレアミドで処理したグリアにおける P2  $\alpha$ 1 の減少は可逆的であった。なぜなら、P2はオレアミドを培養皿から除去し、正常培地で4時間培養した後に、対照レベルで存在したからである（レーン5）。非リン酸化(NP)及びリン酸化(P1 及び P2)  $\alpha$ 1 コネキシンアイソフォーム及び分子量標準はブロットに右側に示した。

#### 【図18】

図18は、オレアミド及び類似体の一般的合成を示している。

#### 【図19】

図19は、類似体合成のウィティッヒ型アプローチを含む種々の類似体合成を示している（これらの化合物のデータはスキーム5を参照）。

#### 【図20】

図20は、オレフィン誘導体の一般的合成を示している（これらの化合物のデータはスキーム7を参照）。

#### 【図21】

図21は、 $\alpha$ -メチル誘導体の合成を示している（これらの化合物のデータはスキーム8を参照）。



## 【図22】

図22は、種々の $\alpha$ -スルフィドリル誘導体の合成を示している（これらの化合物のデータはスキーム8を参照）。

## 【図1】

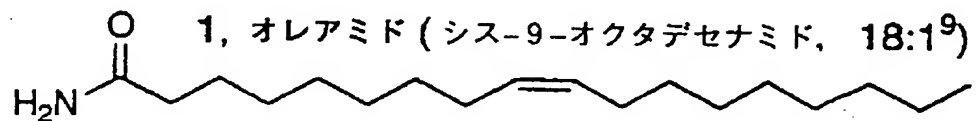


FIG. 1

【図2A】

構造	注釈 <sup>a</sup>	%阻害 <sup>b</sup>		
		100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	20 $\mu$ M
二重結合なし				
ステアラミド 	18:0	nd <sup>c</sup>	0%	nd <sup>d</sup>
二重結合1つ				
ミリストレアミド 	14:1 <sup>9</sup>	0%	0%	nd
パルミトレアミド 	18:1 <sup>9</sup>	100%	100%	100%
	17:1 <sup>9</sup>	nd	100%	100%
ペトロセリナミド 	18:1 <sup>6</sup>	nd	100%	100%
	18:1 <sup>7</sup>	nd	100%	100%
	18:1 <sup>8</sup>	100%	100%	30%
オレアミド 	18:1 <sup>9</sup>	100%	100%	100%
エライダミド 	18:1 <sup>9-10,12</sup>	0%	0%	0%
バクセナミド 	18:1 <sup>11</sup>	100%	25%	0%
	18:1 <sup>12</sup>	nd	90-100%	nd
	18:1 <sup>13</sup>	nd	75-90%	nd
	18:1 <sup>15</sup>	nd	0%	nd
	19:1 <sup>10</sup>	nd	100%	nd
	20:1 <sup>5</sup>	nd	0%	nd
	20:1 <sup>8</sup>	nd	95-100%	nd
	20:1 <sup>9</sup>	100%	100%	0%
	20:1 <sup>11</sup>	100%	100%	nd

FIG. 2A

【図2B】

構造	注釈 <sup>a</sup>	%阻害 <sup>b</sup>		
		100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	20 $\mu$ M
	20:1 <sup>13</sup>	0%	0%	nd
	22:1 <sup>9</sup>	100%	100%	0%
エルカミド 	22:1 <sup>13</sup>	0%	0%	nd
	24:1 <sup>9</sup>	100%	100%	0%
ネルボンナミド 	24:1 <sup>15</sup>	0%	0%	nd
二重結合2つ				
リノールアミド 	18:2 <sup>9,12</sup>	nd	100%	10%
リノエライダミド 	18:2 <sup>9,12-13,23</sup>	75%	25%	nd
	20:2 <sup>11,14</sup>	nd	90%	20%
二重結合3つ				
$\gamma$ -リノレナミド 	18:3 <sup>8,9,12</sup>	nd	100%	15%
$\alpha$ -リノレナミド 	18:3 <sup>8,12,15</sup>	0%	0%	nd
	20:3 <sup>8,11,14</sup>	nd	0%	nd
	20:3 <sup>11,14,17</sup>	nd	0%	nd
二重結合4つ				
アラキドナミド 	20:4 <sup>5,8,11,14</sup>	100%	100%	90-100%
二重結合5つ				
エイコサペンタエンアミド 	20:5 <sup>5,8,11,14,17</sup>	nd	100%	nd
二重結合6つ				
ドコサヘキサエンアミド 	22:6 <sup>4,7,10,13,16,19</sup>		0%	nd

FIG. 2B

【図3】



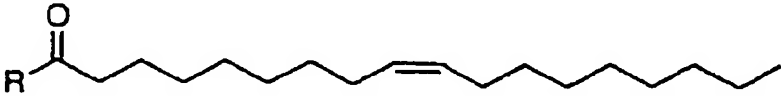
$\begin{array}{c} \text{a} \\ \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{CCCCCCCCC}=\text{CCCCCCCC} \end{array}$			
薬 剤 (R)	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 $\mu\text{M}$	50 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{M}$
NH <sub>2</sub> (オレアミド)	100%	100%	100%
OH (オレイン酸)	0%	0%	0%
MeNH	nd <sup>b</sup>	100%	70-80%
Me <sub>2</sub> N	nd	100%	70-85%
EtNH	nd	100%	50-60%
Et <sub>2</sub> N	nd	100%	15-25%
CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> NH	nd	100%	nd
PrNH	nd	90-100%	50-70%
i-PrNH	nd	100%	nd
 NH	nd	100%	nd
i-PrNMe	nd	100%	nd
BuNH	nd	100%	nd
 N	nd	100% <sup>c</sup>	0% <sup>d</sup>
PhNH	nd	0%	nd
Ph(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NH	nd	0%	nd
HONH	nd	100% <sup>c</sup>	0% <sup>d</sup>
MeONMe	nd	100% <sup>c</sup>	100% <sup>c,d</sup>
NH <sub>2</sub> NH	nd	0% <sup>a</sup>	nd
CH <sub>3</sub> O (オレイン酸メチル)	0%	0%	nd
EtO (オレイン酸エチル)	nd	0%	nd
Me <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> O	nd	0%	nd
H (オレイルアルデヒド)	nd	100%	70-90%
CF <sub>3</sub>	nd	100% <sup>c</sup>	100% <sup>c,d,f</sup>
BrCH <sub>2</sub>	nd	15%	nd
ClCH <sub>2</sub>	nd	0%	nd
N <sub>2</sub> CH	nd	100%	nd
$\text{R}-\text{CCCCCCCCC}=\text{CCCCCCCC}$			
CH <sub>2</sub> OH (オレイルアルコール)	80-100%	15%	nd
CH <sub>2</sub> OAc (酢酸オレイル)	nd	0%	nd
CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> (オレイルアミン)	100%	100%	90-100%
CH <sub>2</sub> NHCONH <sub>2</sub>	nd	10%	nd
CH(OMe) <sub>2</sub>	nd	0%	nd
(オレイルアルデヒドジメチルアセタール)			
CoA-SCO	nd	0%	nd

FIG. 3

【図4】

			
薬 剤 (R)	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	20 $\mu$ M
NH <sub>2</sub> (オレアミド)	100%	100%	100%
HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH	100%	100%	0%
(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N	nd <sup>b</sup>	8%	nd
HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH	nd	100%	nd
HOCH <sub>2</sub> CH(OAc)CH <sub>2</sub> O <sup>c</sup>	50%	0%	0%

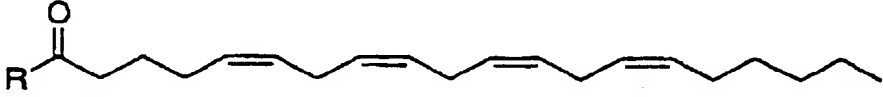
			
薬 剤 (R)	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	20 $\mu$ M
NH <sub>2</sub>	100%	100%	90-100%
HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH	100%	100%	35%
(HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N	nd	0%	nd

FIG. 4

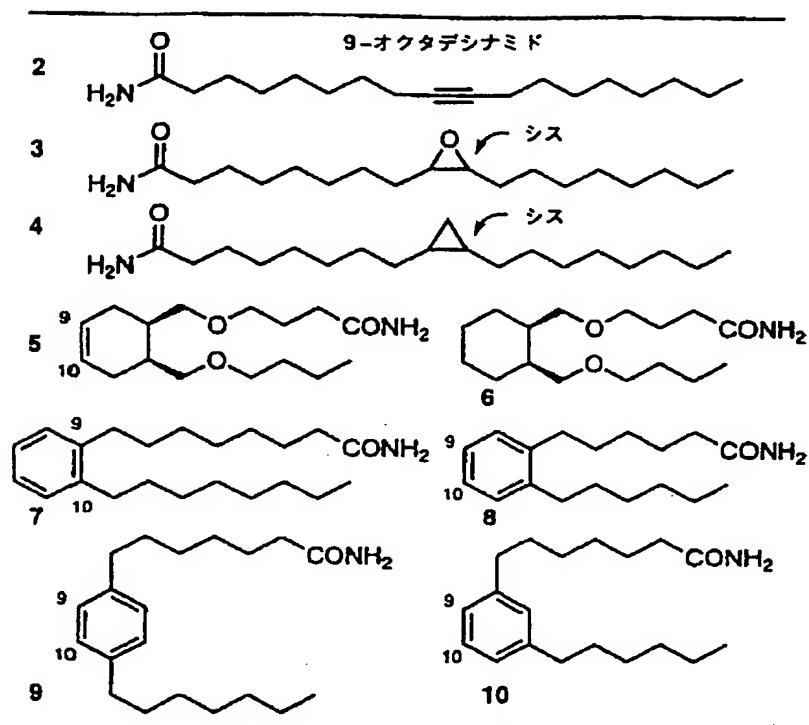
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{R}$			
薬 剤 (R)	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 $\mu\text{M}$	50 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{M}$
CH <sub>3</sub> (オレアミド)	100%	100%	100%
(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	100%	100%	0%
(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	100%	100%	0%
(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	100%	100%	0%
CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	nd <sup>b</sup>	100%	nd
CH <sub>2</sub> OH	nd	8%	nd
CONH <sub>2</sub>	nd	0%	nd
CO <sub>2</sub> H	nd	0%	nd

【図 6】

Chemical structure of a substituted amide derivative, showing a long alkyl chain with a double bond and a terminal methyl group, attached to a nitrogen atom which is also bonded to an R group and an R<sup>1</sup> group.

**FIG. 6**

【図7】



薬 剤	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 $\mu$ M	50 $\mu$ M	20 $\mu$ M
1 (オレアミド)	100%	100%	100%
2	nd <sup>b</sup>	90-100%	75-100%
3	0% <sup>c</sup>	0% <sup>c</sup>	0%
4	100%	75%	50-70%
シス-5	nd	60-70%	nd
シス-6	nd	20-30%	nd
トランス-5	nd	100%	5%
トランス-6	70%	0%	nd
7	100%	80-90%	80-100%
8	nd	90-100%	85-100%
9	nd	90-100%	0%
10	100%	0%	nd

FIG. 7

NC(=O)XCCCCC/C=C\CCCCCCCC

薬 剤 (X)	% 阻 害 <sup>a</sup>		
	100 μM	50 μM	20 μM
CH <sub>2</sub> (オレアミド)	100%	100%	100%
CH(CH <sub>3</sub> )	nd <sup>b</sup>	100%	nd
C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	nd	100%	nd
O	nd	100%	nd
NH	nd	100%	nd
CH(SH)	0% <sup>c</sup>	0%	nd
CH(SAc)	nd	100%	nd
CH(OH)	nd	100%	80-100% <sup>d</sup>
CHCl	nd	100%	85-100% <sup>d</sup>
C(=O)	nd	100%	5-15% <sup>d</sup>
C(=O)CH <sub>2</sub>	nd	100%	20-40% <sup>d</sup>

FIG. 8



【図9】

処 理	波に関与した細胞数 (1 方向)				接合部色素結合 (%)
	2 秒	4 秒	8 秒	16 秒	
対照	1.16±0.37	2.48±0.63	6.74±0.93	11.26±1.34	97.5±1.72
オレアミド (50 μM)	1.13±0.34	2.39±0.56	6.55±0.99	10.77±2.25	0.12±0.08
アナタミド (50 μM)	1.09±0.30	2.39±0.67	6.58±1.09	11.06±1.31	0.09±0.05
18β-GA (40 μM)	0.06±0.03	0.06±0.03	0.06±0.03	0.06±0.03	0.09±0.04
ベプタノール (3 mM)	0.03±0.02	0.03±0.02	0.03±0.02	0.03±0.02	0.14±0.12
スラミン (200 μM)	0.90±0.30	0.94±0.33	0.94±0.33	0.94±0.33	98.2±1.20
オレアミド+スラミン	0.83±0.38	0.86±0.35	0.86±0.35	0.86±0.35	0.08±0.03

カルシウム波伝播に関係する細胞数を、刺激した細胞から 1 方向において反応した細胞の数を計数することにより定量化した。カルシウムシグナル伝達の開始後、示される時間点に分析した。反応細胞数は平均±標準偏差として表した。ギャップ結合色素移動は、色素結合の百分率 (平均±標準偏差) として表した (実験手順の欄に記載)。各処理は 3 つの皿において行い、各皿において 10 の独立したフィールドを試験した。N = 30。

FIG. 9

【図10A】

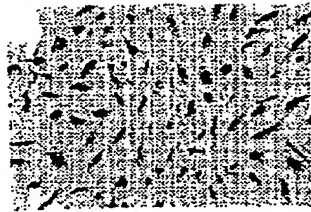


FIG. 10A

【図10B】



FIG. 10B

【図10C】



FIG. 10C

【図10D】



FIG. 10D

【図10E】



FIG. 10E

【図10F】



FIG. 10F

【図10G】



FIG. 10G

【図10H】

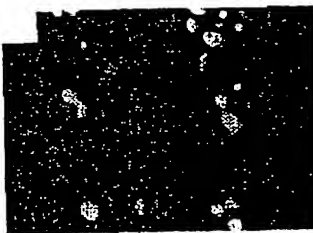


FIG. 10H

【図10I】



FIG. 10I

【図11J】

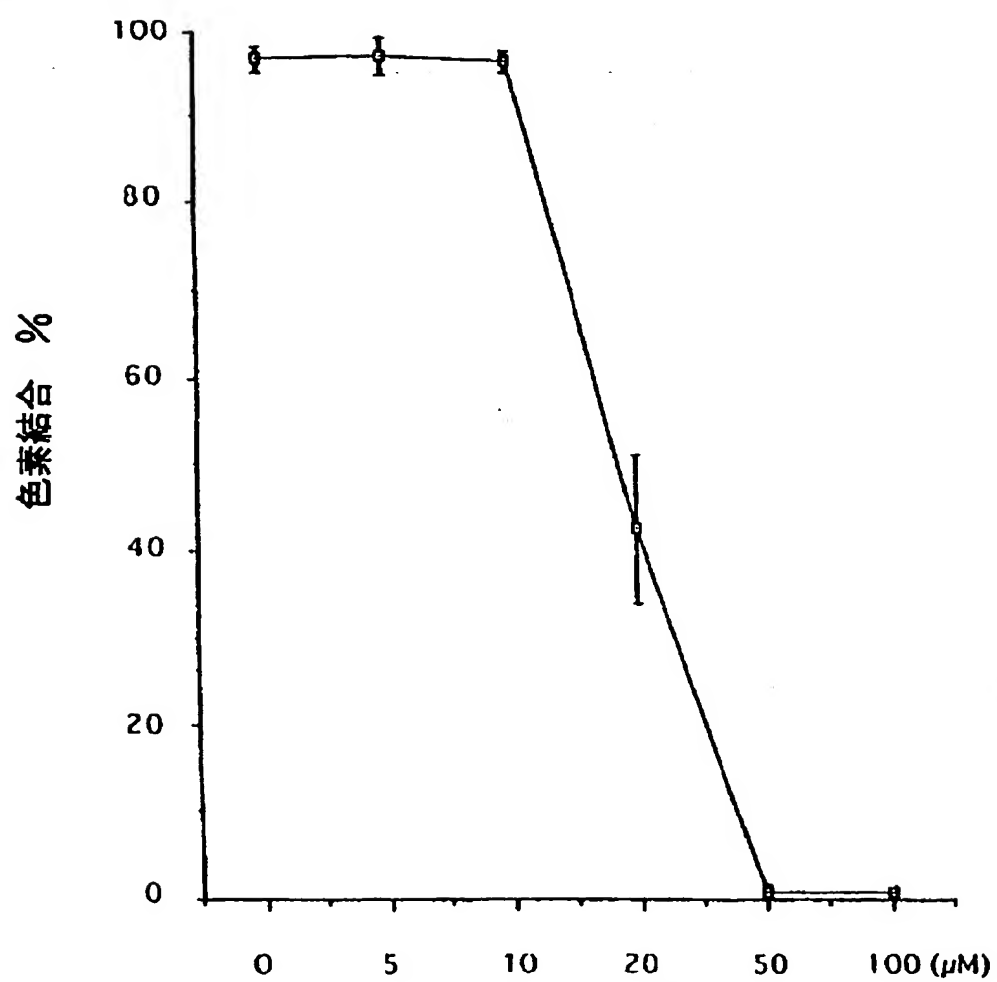


FIG. 11J

【図11K】

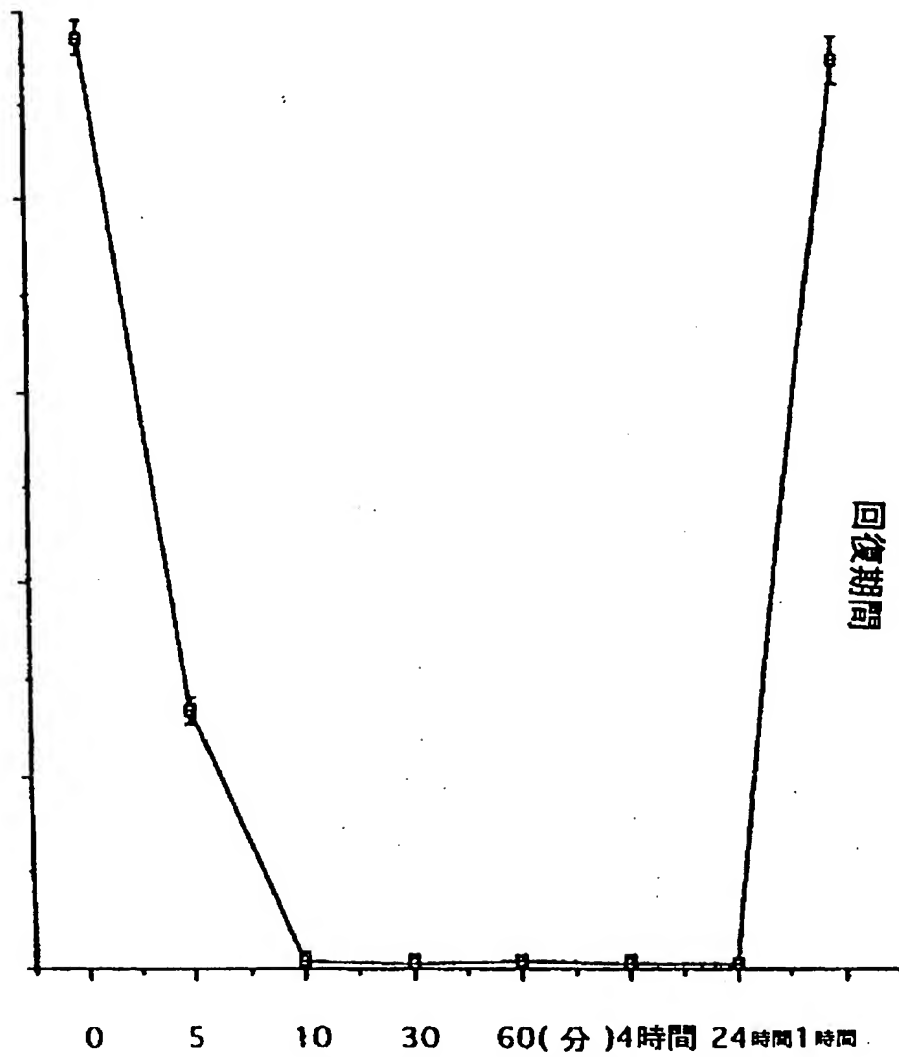


FIG. 11K

【図12A】

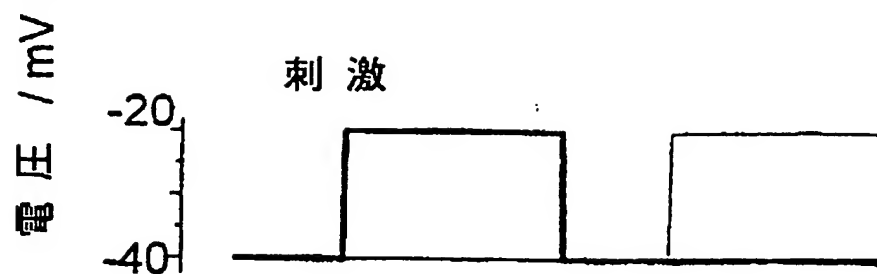


FIG. 12A

【図12B】

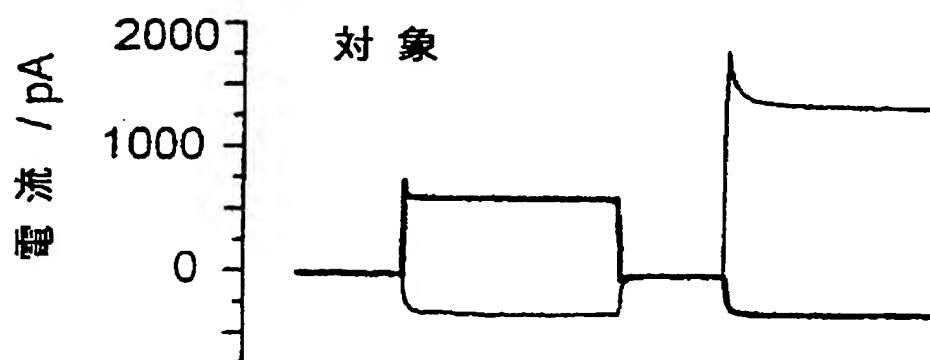


FIG. 12B

【図12C】

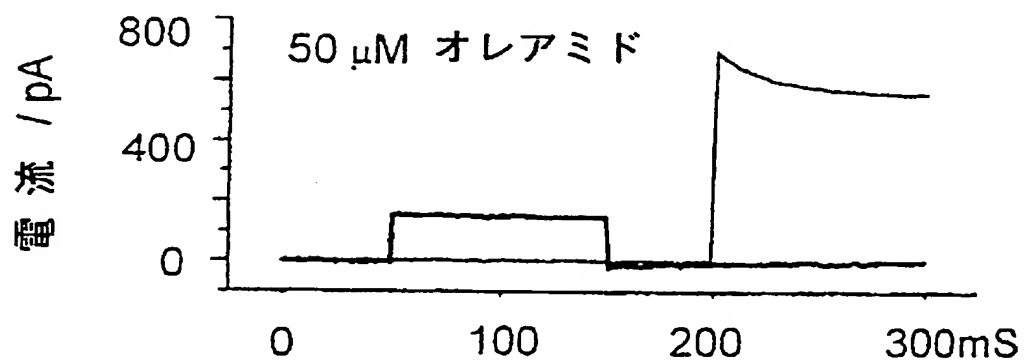


FIG. 12C

【図12D】

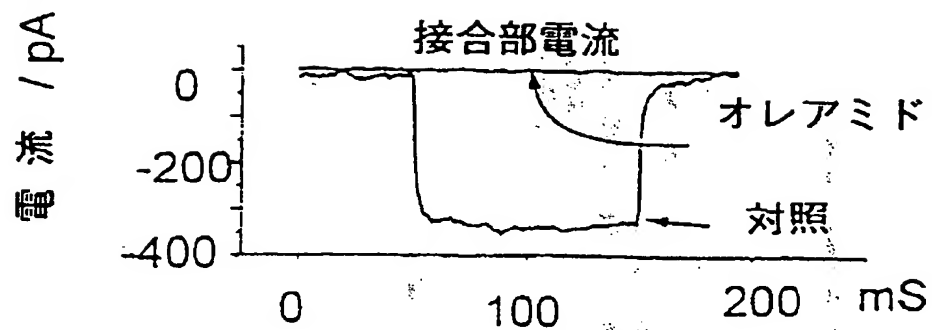


FIG. 12D

【図13】

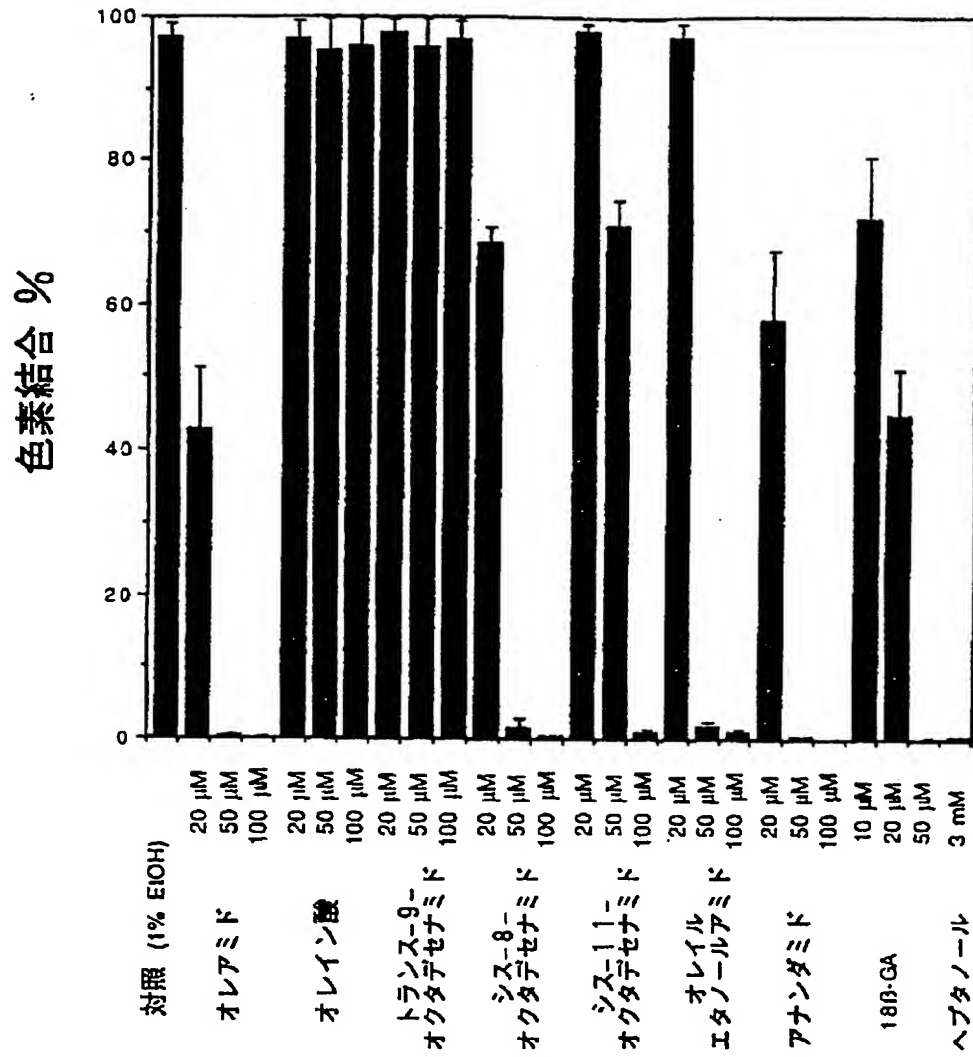


FIG. 13



【図14A】



FIG. 14A

【図14B】

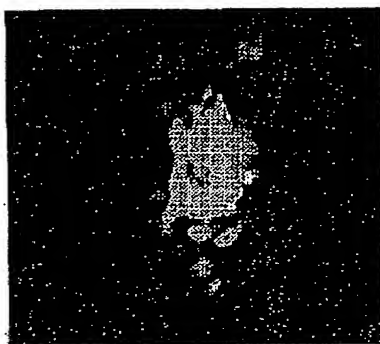


FIG. 14B

【図14C】

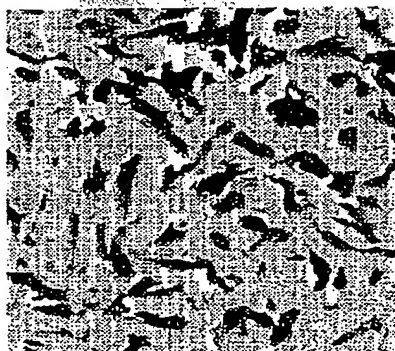


FIG. 14C

【図14D】

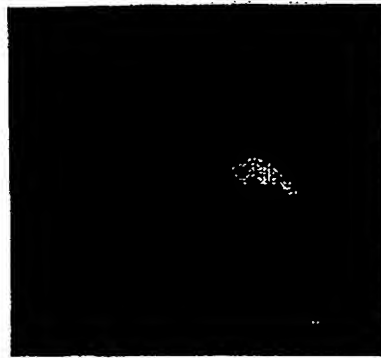


FIG. 14D

【図15E】

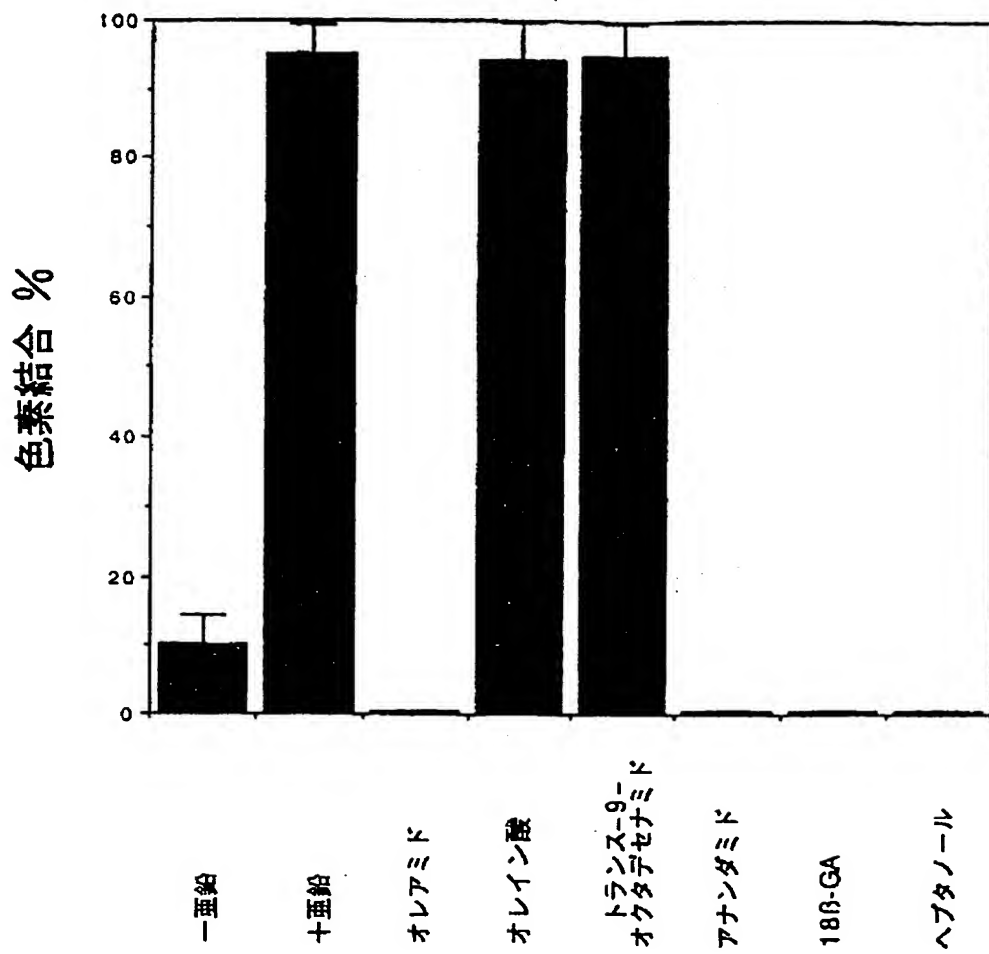


FIG. 15E

【図16A】



FIG. 16A

【図16B】

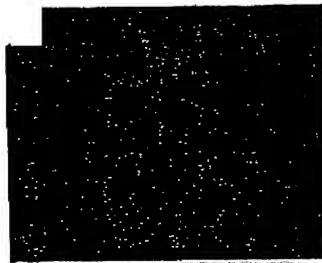


FIG. 16B

【図16C】

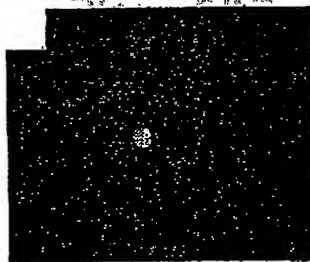


FIG. 16C

【図16D】

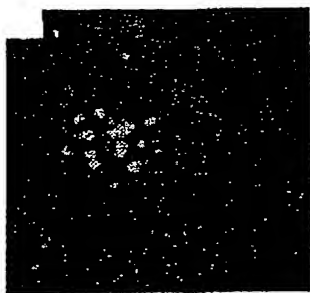


FIG. 16D

【図16E】

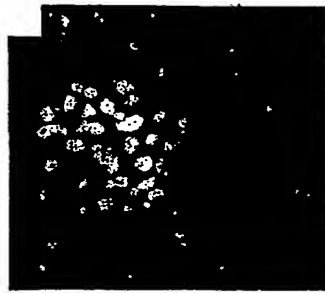


FIG. 16E

【図16F】

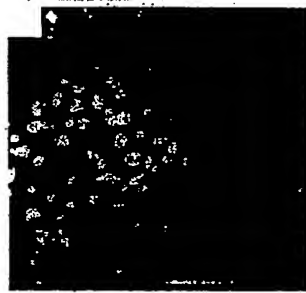


FIG. 16F

【図17】

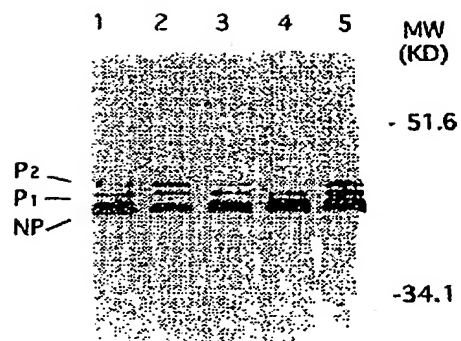


FIG. 17

【図18】

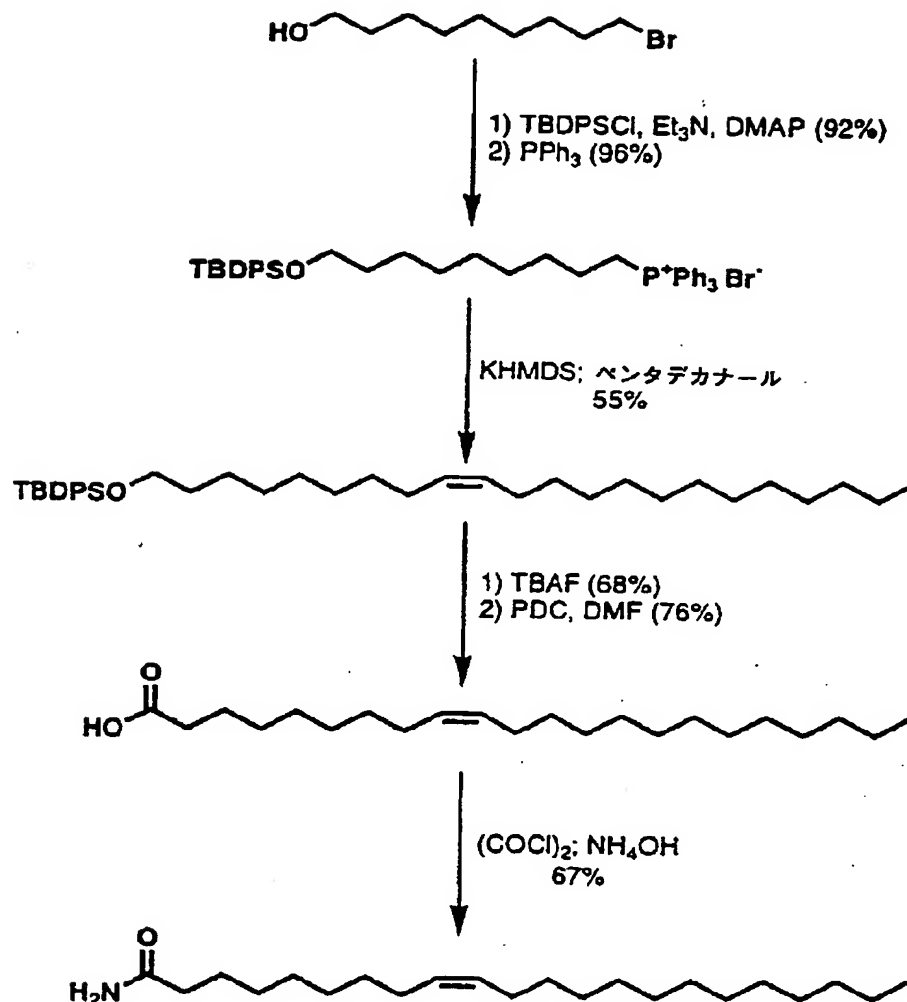


FIG. 18

【図19】

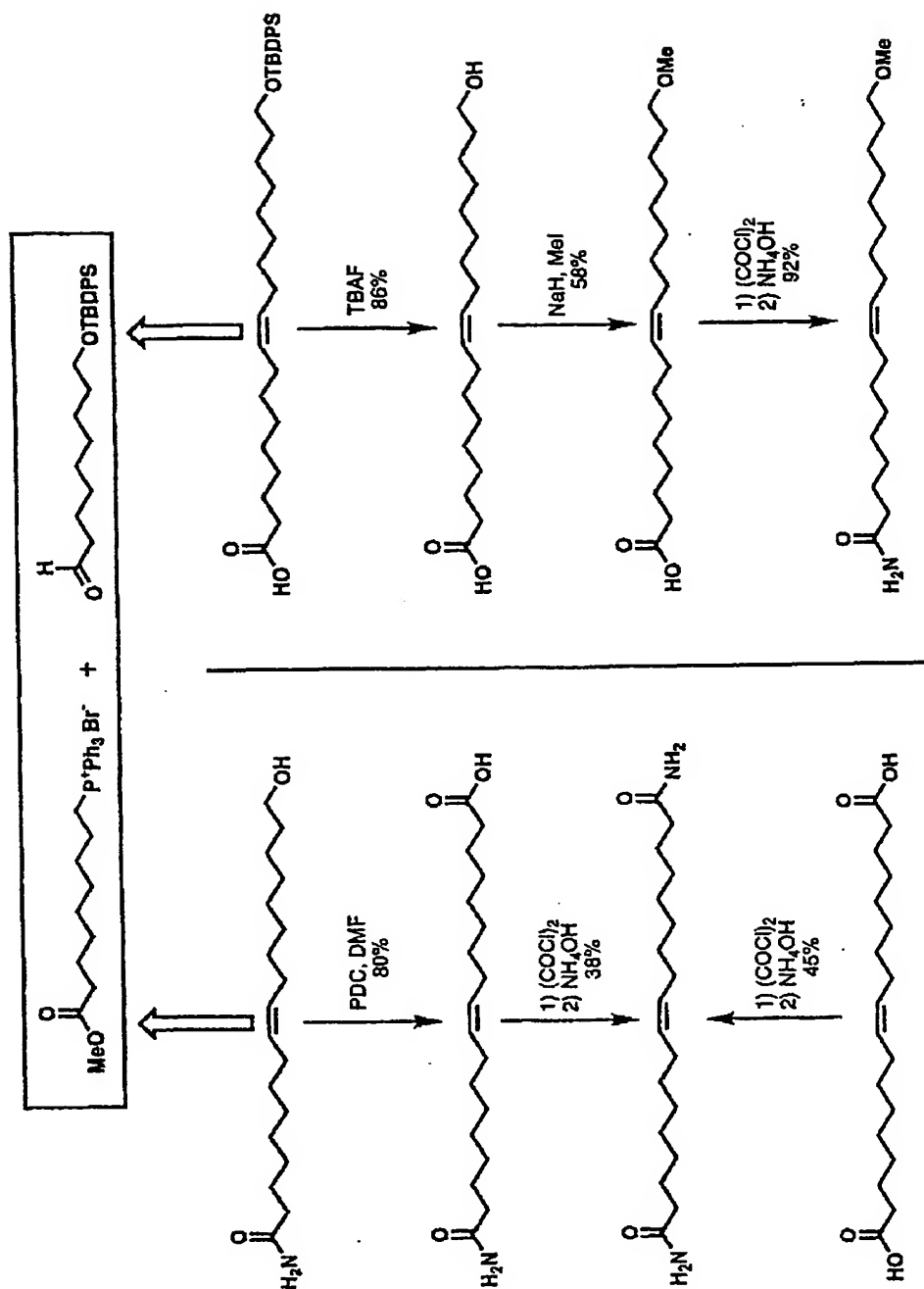


FIG. 19

【图 20】

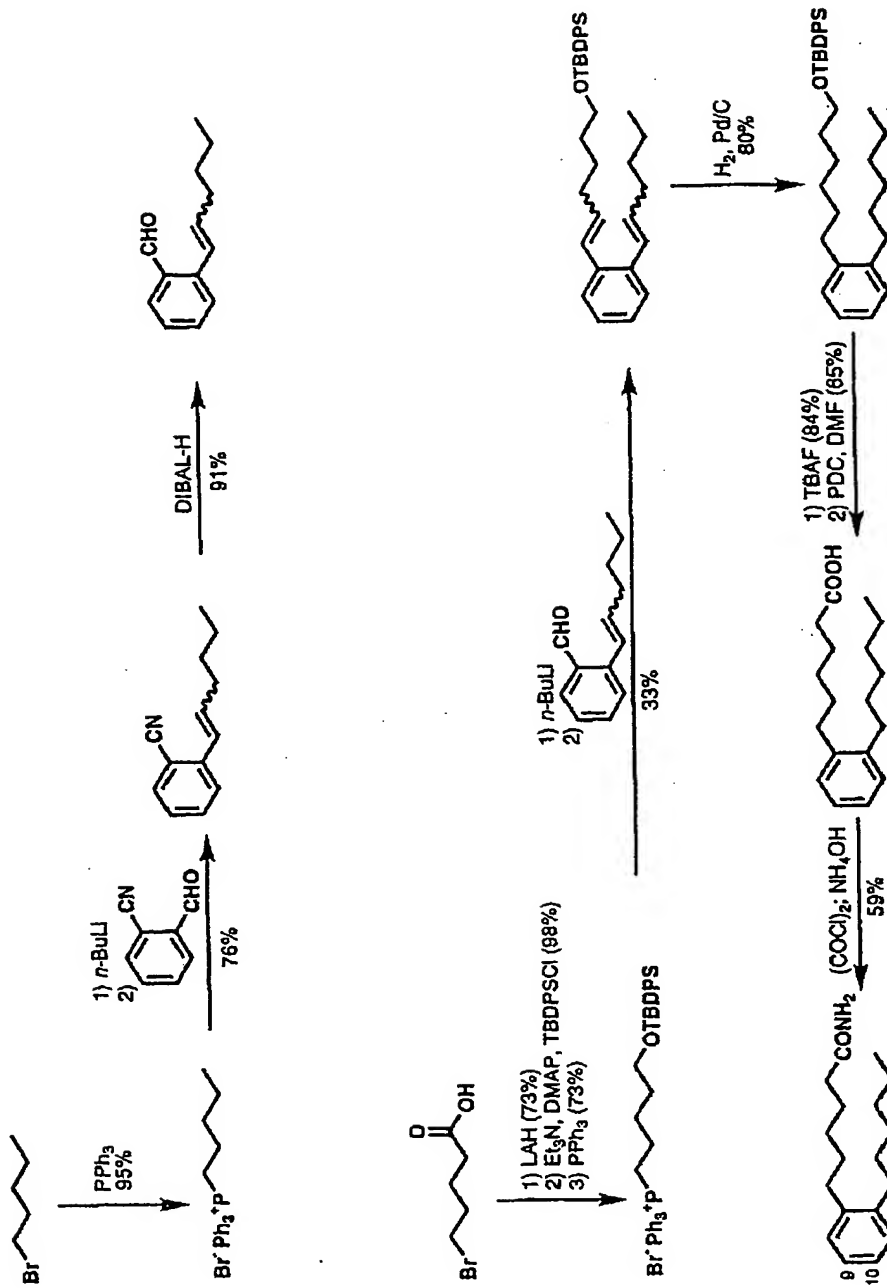


FIG. 20

【図 21】

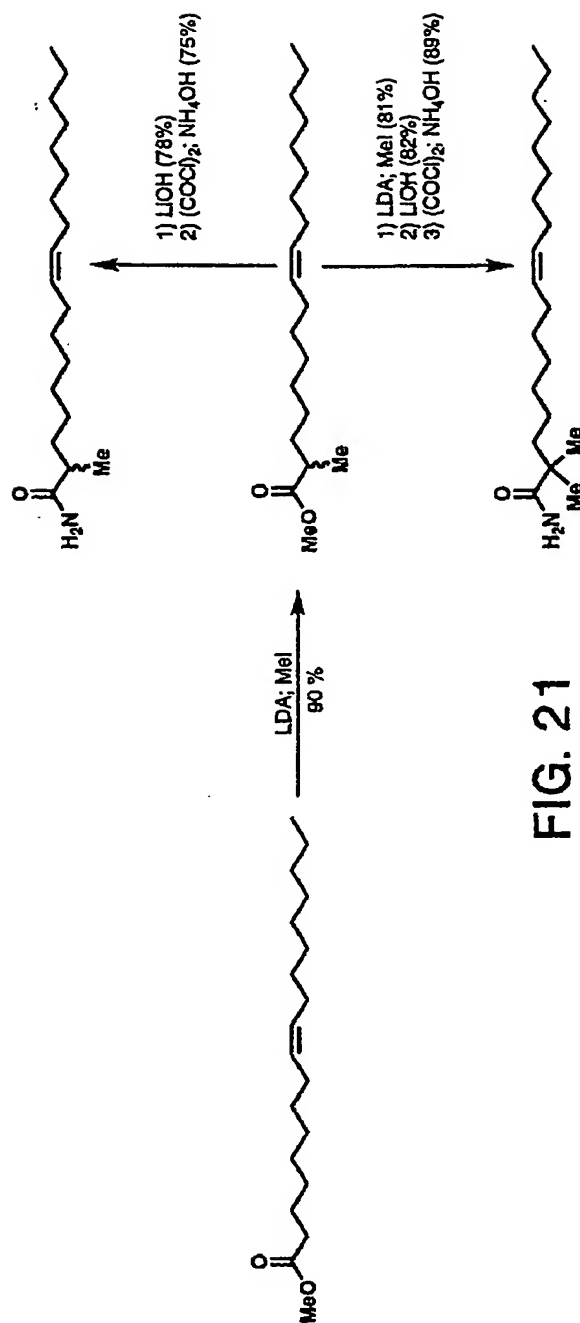


FIG. 21



【図22】

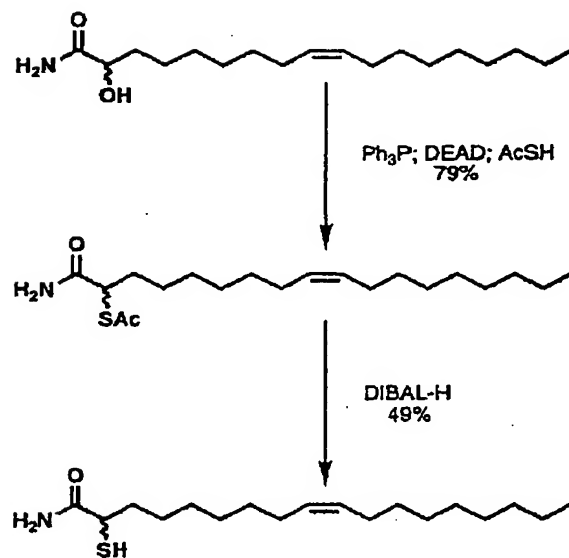


FIG. 22

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US98/24913

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(6) : Please See Extra Sheet. US CL : Please See Extra Sheet. According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/408,422,423,613,693,702,703,705; 554/51,55,56,59,213,214,223; 548/400,517,530 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) cas online		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Chem. abstr., Vol. 116, No. 25, 22 June 1992 (Columbus OH, USA), BRIDGE, A.W., 'Preparation of benzamides and related compounds as cholesterol acyltransferase inhibitors.' The abstract 255336v, Column 2, WO 9203412 A, 1992, page 756.	1-2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: 'A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance 'B' earlier document published on or after the international filing date 'L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) 'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means 'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed 'T' later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention 'X' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone 'Y' document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art 'Z' document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 APRIL 1999		Date of mailing of the international search report 25 MAY 1999
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer DEBORAH D. CARR Telephone No. (703) 308-1235

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)\*

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JS98/24913

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:  
IPC (6):

A61K 31/40; A61N 43/36; C07D 207/00, 295/00; C07C 233/00, 59/00

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:  
US CL :

514/408,422,423,613,693,702,703,705; 554/51,55,56,59,213,214,223; 548/400,517,530

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ターマード (参考)
A 6 1 K	31/40	A 6 1 K	31/40
C 0 7 C	49/227	C 0 7 C	49/227
	57/12		57/12
	69/58		69/58
	233/09		233/09
	233/10		233/10
	233/11		233/11
	233/20		233/20
	233/49		233/49
	235/06		235/06
	235/28		235/28
	235/76		235/76
	237/22		237/22
	243/30		243/30
	245/14		245/14
	259/06		259/06
	271/10		271/10
	275/20		275/20
	323/60		323/60
	327/32		327/32
C 0 7 D	207/00	C 0 7 D	207/00
	295/18		295/18
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, K E, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, D K, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, L V, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, U S, UZ, VN, YU, ZW		
(72)発明者	ギルラー ノートン ビー アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92037 ラ ジョラ イースト ローズラ ンド ドライヴ 11		
(72)発明者	ラーナー リチャード エイ アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92037 ラ ジョラ イースト ローズラ ンド ドライヴ 7750		

(72)発明者 クラヴァット ベンジャミン エフ  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州  
92037 ラ ジョラ ラ ジョラ ハーモ  
サ アベニュー 5555

F ターム(参考) 4C069 AA02  
4C086 AA01 BC07 NA14 ZA02 ZA05  
4C206 AA01 DA03 DA04 GA03 HA22  
NA14 ZA02 ZA05  
4H006 AA01 AA05 AB21 BV21

*This Page Blank (uspto)*

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**This Page Blank (uspto)**